

Synthese aliphatischer α -Amino- β -hydroxy-carbonsäuren durch Aldolreaktion mit Acetaminomalonsäure und deren Monoester

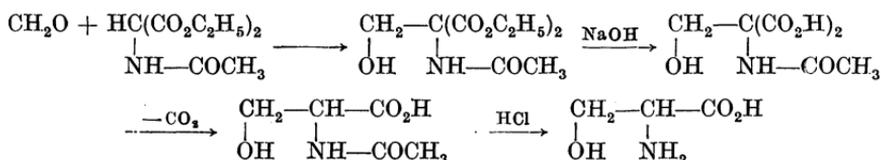
Von

Heinrich Hellmann und Helmut Piechota

Aus dem Chemischen Institut der Universität Tübingen

(Der Schriftleitung zugegangen am 12. Oktober 1959)

Eine einfache Synthese für α -Amino- β -hydroxy-carbonsäuren mit allgemeiner Anwendungsfähigkeit ist bisher nicht bekannt geworden. Von den zahlreichen Synthesen des Serins¹ dürfte die von King² beschriebene die beste sein, die in einer Addition von Formaldehyd an den leicht zugänglichen Acetaminomalonester mit nachfolgender Hydrolyse des Hydroxymethyl-acetaminomalonesters besteht (Gesamtausbeute 65% d. Th.):



Die Addition des Formaldehyds verläuft bei Verwendung von Natriumhydroxyd als Katalysator praktisch quantitativ. Mit Schwierigkeiten ist dagegen die Totalhydrolyse des Adduktes behaftet. Da das Molekül durch Mineralsäure vollkommen zerstört wird, ist man auf die alkalische Hydrolyse angewiesen, die zur Hydroxymethyl-acetaminomalonsäure führt. Diese muß durch Erhitzen mit Essigsäure decarboxyliert und die entstandene α -Acetamino- β -hydroxy-propionsäure durch Kochen mit konz. Salzsäure entacetyliert werden. Das so erhaltene Serin läßt sich jedoch nur durch Extraktion mit heißem absol. Alkohol von Natriumchlorid und Natriumacetat befreien, wobei es wieder verestert wird, so daß eine nochmalige Verseifung durch Kochen mit konz. Salzsäure erforderlich ist, die eine weitere Zersetzung des recht säureempfindlichen Serins zur Folge hat. Der Ersatz des Acetaminomalonsäure-diäthylesters durch die leichter hydrolysierbaren Formamino- und Acetaminomalonsäure-dimethylester bietet keine wesentlichen Vorteile.

¹ Lit. Zusammenstellung bei H. E. Carter u. H. D. West, *Org. Syntheses* 20, 81 [1940].

² J. A. King, *J. Amer. chem. Soc.* 69, 2738 [1947]; U.S. Pat. 2 530 065, vgl. *Chem. Abstr.* 45, 2971 [1951].

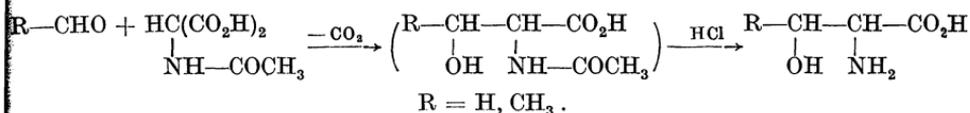
Um den Schwierigkeiten bei der Hydrolyse des Hydroxymethyl-acetaminomalonesters zu entgehen, versuchten wir die Esterverseifung der Aldolreaktion voranzustellen. Acetaminomalonsäure-dimethylester³ läßt sich durch absol. methanol. Kalilauge zum Dikalium-acetaminomalonat verseifen (68% d. Th.). Aus dem leicht isolierbaren Salz kann man die Acetaminomalonsäure durch Zugabe von absol. äthanol. Salzsäure in einer Ausbeute von 88% d. Th. gewinnen.

Eine Reinigung durch Umkristallisieren ist nicht möglich, weil die Acetaminomalonsäure bereits in gelöster Form bei gelindem Erwärmen decarboxyliert wird unter Bildung von Acetursäure. Ein ähnliches Verhalten ist von der Malonsäure selbst bekannt, die sich in wäbr. Lösung bereits bei 68° unter Decarboxylierung zersetzt⁴, obwohl ihr Schmelzpunkt mit 135,5° relativ hoch liegt, und die Schmelze erst oberhalb von 140° Kohlendioxyd entwickelt⁵.

Die analoge Darstellung von Formaminomalonsäure gelang nicht. Zwar ließ sich Formaminomalonsäure-dimethylester mit einer Ausbeute von 53% d. Th. zum Dikalium-formaminomalonat verseifen, doch lieferte die nachfolgende Behandlung mit äthanolischer Salzsäure keine analysenreinen Produkte. Auch schonendere Behandlung mit einem Dowex-Kationenaustauscher führte zu keinem günstigeren Ergebnis.

Die direkte Darstellung der Acylaminomalonsäuren aus Malonsäure in Analogie zur Synthese ihrer Ester ist nicht möglich, weil sich die Isonitroso-malonsäure in saurem Milieu rasch unter Bildung von Blausäure, Kohlendioxyd und Wasser zersetzt.

Die Addition von Formaldehyd an Acetaminomalonsäure gelingt am besten bei Raumtemperatur mit Triäthylamin als Katalysator; sowohl Kaliumcarbonat als auch Natriumhydrogencarbonat bleiben in ihrer Wirksamkeit weit hinter dem Triäthylamin zurück. Beim Zusammengeben der Komponenten tritt augenblicklich lebhaftere Reaktion unter Erwärmung und Gasentwicklung ein. Zwischenprodukte wurden nicht isoliert. Nach hydrolytischer Abspaltung des Acetylrestes durch Kochen mit wäbr. konz. Salzsäure und der üblichen Aufarbeitung wurde halogenfreies DL-Serin, welches sich in der Papierchromatographie als rein erwies, in einer Ausbeute von 61,5% d. Th. erhalten.



Während die Aldolreaktion der Acetaminomalonsäure-diester streng auf den Formaldehyd beschränkt ist, vermag die Acetaminomalonsäure auch mit dem Acetaldehyd zu reagieren. Die Hydrolyse des Reaktionsproduktes führt zu Threonin mit einer Gesamtausbeute von 50% d. Th.

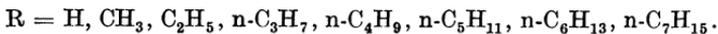
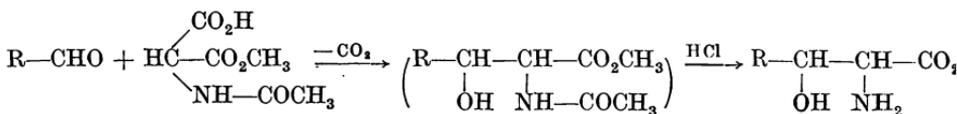
³ H. Hellmann u. F. Lingens, diese Z. **297**, 283 [1954].

⁴ F. Lamouroux, C. R. hebdomadaire Séances Acad. Sci. **128**, 998 [1899].

⁵ C. Heintzel, Liebigs Ann. Chem. **139**, 132 [1866]; E. v. H. Jelt, Ber. dtsch. chem. Ges. **27**, 1178 [1894].

Ob sich auch andere aliphatische Aldehyde in gleicher Weise mit Acetaminomalonsäure umsetzen, wurde nicht mehr untersucht, nachdem die Acetaminomalonsäure-monoester als weit günstigere Ausgangsstoffe für die Synthese von α -Amino- β -hydroxy-carbonsäuren erkannt wurden.

Acetaminomalonsäure-monomethylester ist aus dem Diester in 90proz. Ausbeute bequem zugänglich⁶. Im Gegensatz zur Acetaminomalonsäure nimmt der Monoester bei Raumtemperatur in Gegenwart von Triäthylamin ein Mol. Formaldehyd quantitativ auf. In dieser Hinsicht verhält er sich wie der Diester, der jedoch stärkere Basen verlangt. Die Addition des Aldehyds an den Monoester ist, wie die an die Acetaminomalonsäure, mit einer Abspaltung von Kohlendioxyd gekoppelt, so daß sich eine gesonderte Decarboxylierung erübrigt. Nach beendeter Reaktion wird das Gemisch mit konz. Salzsäure gekocht und das DL-Serin-hydrochlorid ohne Isolierung auf übliche Weise in kristallisiertes, papierchromatographisch reines, halogenfreies DL-Serin übergeführt. Die Ausbeute beträgt 73% d. Th., bezogen auf Monoester. Diese Darstellung des DL-Serins im Eintopfverfahren bietet keinerlei präparative Schwierigkeiten.



In prinzipiell gleicher Weise wird Acetaldehyd von Acetaminomalonsäure-monomethylester unter Decarboxylierung in Gegenwart von Triäthylamin aufgenommen. Die Hydrolyse führt zu einem Threonin-Gemisch (53% d. Th., bezogen auf Monoester), welches nach mikrobiologischer Testung zu 95% aus DL-Allothreonin und 5% aus DL-Threonin besteht*. Auch für Threonin ist bereits eine große Zahl von Synthesen bekannt⁷, die jedoch von der hier beschriebenen an Einfachheit und Ergiebigkeit übertroffen werden dürften.

Dieses günstige Ergebnis veranlaßte uns, weitere aliphatische unverzweigte Aldehyde auf ihre Eignung zur Addition an den Acetaminomalonsäure-monomethylester zu prüfen. Da diese Prüfung im Rahmen einer Untersuchung über die Aldolreaktion erfolgte, wurden alle Versuche um vergleichbarer Bedingungen willen bei Raumtemperatur unter Triäthylamin-Katalyse durchgeführt. Eine Diastereomeren-Analyse der jeweils nach Hydrolyse der Addukte erhaltenen α -Amino- β -hydroxy-carbonsäuren wurde nicht vorgenommen. Es ist zu vermuten, daß sich

⁶ H. Hellmann, K. Teichmann u. F. Lingens, Chem. Ber. **91**, 2427 [1958].

⁷ Lit. Zus. bei H. E. Carter u. H. D. West, Org. Syntheses **20**, 101 [1940]; Houben-Weyl-Müller, Methoden der org. Chemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1958, Bd. XI/2, S. 419.

* Für die mikrobiologische Untersuchung danken wir den Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld.

die Ausbeuten und die Diastereomerengemische mit der Natur der basischen Katalysatoren ändern werden⁸. Das Ergebnis der Synthese zeigt die Tabelle.

Übersicht über die in Gegenwart von Triäthylamin bei Raumtemperatur synthetisierten α -Amino- β -hydroxy-carbonsäuren.

Eingesetzter Aldehyd	α -Amino- β -hydroxy-carbonsäure	Ausb. (% d. Th.)	Schmp.	R_F^*	Lit.
Formaldehyd	Serin	72	246 ⁰	0,58	1,2
Acetaldehyd	Threonin	53	234 ⁰	0,62	7
Propionaldehyd	3-Hydroxy-norvalin	44	231 ⁰	0,66	9
n-Butyraldehyd	3-Hydroxy-norleucin	51	228 ⁰	0,69	10
n-Valeraldehyd	2-Amino-3-hydroxy-önanthsäure	11	223 ⁰	0,72	—
n-Hexanal	2-Amino-3-hydroxy-caprylsäure	8	221 ⁰	0,77	—
Önenthaldehyd	2-Amino-3-hydroxy-pelargonsäure	2	217 ⁰	0,80	—
n-Octanal	2-Amino-3-hydroxy-caprinsäure	0,5	202 ⁰	0,82	—

* Aufsteigende Papierchromatographie im Fließmittelgemisch Pyridin/Wasser 65:35¹¹.

Die Reaktion tritt in allen Fällen ein. Die Ausbeuten nehmen jedoch vom n-Valeraldehyd ab aufwärts stark ab. Während bei den ersten Gliedern der homologen Reihe der Zwitterionencharakter der Amino-hydroxysäuren in Erscheinung tritt, überwiegt mit zunehmender Kettenlänge der organische Charakter. Das kommt zum Ausdruck in der abnehmenden Wasser- und zunehmenden Alkohol-Löslichkeit. Die ersten Glieder der Reihe werden durch Alkohol aus wäbr. Lösung ausgefällt, die letzten lösen sich gut in Alkohol, lassen sich aber aus Wasser umkristallisieren. Die Schmelzpunkte sinken mit zunehmender Kettenlänge, und die R_F -Werte steigen bei Verwendung von Pyridin/Wasser 65:35 als Fließmittel kontinuierlich an.

⁸ Vgl. G. Ehrhart, Chem. Ber. **86**, 483 [1953]; E. D. Bergmann, H. Bendas u. Ch. Resnick, J. chem. Soc. [London] **1953**, 2564; E. D. Bergmann, H. Bendas u. E. Krakauer, ebenda **1954**, 1064; D. O. Holland, P. A. Jenkins u. J. H. C. Naylor, ebenda, **1953**, 273; K. N. F. Shaw u. S. W. Fox, J. Amer. chem. Soc. **75**, 3421 [1923].

⁹ E. Abderhalden u. K. Heyns, Ber. dtsch. chem. Ges. **67**, 530 [1934]; A. E. Osterberg, J. Amer. chem. Soc. **49**, 539 [1927]; M. M. Botwinnik, E. Morozowa u. G. Samsonowa, C. R. Acad. Sci. URSS **30**, 133 [1941], vgl. Chem. Abstr. **35**, 4349 [1941]; N. Izumiya, J. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect. [Nippon Kagaku Zassi] **72**, 700, 784 [1951], vgl. Chem. Abstr. **46**, 11108 [1952]; H. W. Buston, I. Churchman u. J. Bishop, J. biol. Chemistry **204**, 665 [1953]; D. E. Sunko u. A. Kisić, Arhiv Kemiju [Arch. Chim.] **27**, 31 [1955], vgl. Chem. Abstr. **50**, 4809 [1956]; R. Adams u. M. Gianturco, J. Amer. chem. Soc. **78**, 1919 [1956].

¹⁰ E. Abderhalden, diese Z. **251**, 164 [1938]; C. Niemann u. C. T. Redemann, J. Amer. chem. Soc. **68**, 1932 [1946]; R. T. Adams u. C. Niemann, ebenda **73**, 4260 [1951]; H. W. Buston u. J. Bishop, J. biol. Chemistry **215**, 217 [1955].

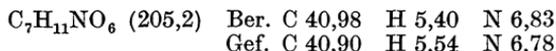
¹¹ H. Kirby-Berry, H. E. Sutton, L. Cain u. J. S. Berry, Univ. Texas Publ. **1941**, No. 5109, 34; vgl. F. Turba, Chromatographische Methoden in der Proteinchemie, Springer-Verlag, Heidelberg 1954, S. 177.

Dem Fonds der Chemischen Industrie und der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für finanzielle Hilfe, den Farbenfabriken Bayer und der Badischen Anilin- & Soda-Fabrik für die großzügige Überlassung von Chemikalien.

H. Piechota dankt der Studienstiftung des Deutschen Volkes für ein Stipendium.

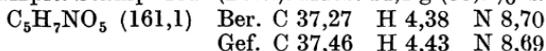
Beschreibung der Versuche

1. Hydroxymethyl-formaminomalonsäure-dimethylester: Die Suspension von 8,75 g (0,05 Mol) Formaminomalonsäure-dimethylester in 10 cm³ absol. Methanol wird mit 5,3 g 36proz. wäbr. Formaldehyd und 0,5 cm³ 1*n* NaOH versetzt und 24 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dabei geht der Ester allmählich vollständig in Lösung, und sein Hydroxymethylderivat scheidet sich in Tafeln ab. Das Lösungsmittel wird im Vak. abgezogen und das zurückbleibende Kristallisat aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 130—132°. Ausbeute quantitativ.



2. Acetaminomalonsäure: Die Suspension von 18,9 g (0,1 Mol) Acetaminomalonsäure-dimethylester in 50 cm³ absol. Methanol wird im Verlaufe von 2 Stdn. unter Rühren tropfenweise mit der Lösung von 11,2 g (0,2 Mol) Kaliumhydroxyd in 50 cm³ absol. Methanol versetzt und 16 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das ausgefallene Dikalium-acetaminomalonat wird abgesaugt, mit Methanol gewaschen und im Vak. über CaCl₂ getrocknet. Ausb. 16,2 g (68% d. Th.).

Eine Suspension von 23,7 g (0,1 Mol) des Dikaliumsalses in 200 cm³ absol. Äthanol wird unter Rühren und Eiskühlung mit 11,3 cm³ 8,8*n* absol. äthanol. Salzsäure tropfenweise versetzt. Nach 15 Min. wird das Ungelöste abfiltriert, im Vak. über CaCl₂ getrocknet, fein gepulvert und nochmals in der gleichen Weise mit absol. äthanol. Salzsäure behandelt. Die vereinigten Filtrate hinterlassen nach dem Vertreiben des Lösungsmittels im Vak. bei Raumtemperatur im Dünnschichtverdampfer die Acetaminomalonsäure als weißes, feinkristallines Pulver. Dieses wird in möglichst wenig absol. Äthanol gelöst und die Lösung mit einem Überschuss an gekühltem absol. Äther versetzt. Die so gefällte gelatinöse Verunreinigung wird abfiltriert und das Filtrat im Vak. bei Raumtemperatur zur Trockne eingedampft. Schmp. 131° (Zers.). Ausb. 14,1 g (88,4% d. Th.).



3. Dikalium-formaminomalonat: 35 g (0,2 Mol) Formaminomalonsäure-dimethylester³ werden mit 22,4 g (0,4 Mol) Kaliumhydroxyd wie bei 2. beschrieben verseift. Beim Trocknen im Hochvak. bei 50° verliert die Substanz bis zu 45% an Gewicht. Ausb. 24,1 g (53% d. Th.).



4. Serin aus Acetaminomalonsäure: Die Lösung von 1,61 g (0,01 Mol) Acetaminomalonsäure in 2 g 40proz. Formalin wird mit 1 g (0,01 Mol) Triäthylamin vereinigt, worauf unter Erwärmung und Gasentwicklung momentan eine lebhaftere Reaktion einsetzt, die durch Kühlen gemäßig wird. Anschließend bleibt das Gemisch 16 Stdn. bei Raumtemperatur stehen, wobei die Gasentwicklung anhält. Beim Eindampfen im Vak. bleibt ein farbloser Sirup zurück, der im doppelten Volumen wäbr. konz. Salzsäure 30 Min. gekocht wird. Durch Verjagen der Salzsäure im Vak. bei 100° erhält man eine dunkelbraune Masse. Sie wird in sehr wenig Wasser gelöst und mit Ammoniak auf pH 8 gebracht. Abermaliges Eindampfen im Vak. führt zu einem dunkelbraunen Sirup, der beim Durchkneten mit wenig absol. Äthanol körnig wird. Aus der wäbr. Lösung dieses Produktes wird das DL-Serin durch Zusatz eines Überschusses an absol. Äthanol, zuletzt an absol. Äther ausgefällt. Umkristallisieren aus Wasser/Äthanol ergibt papierchromatographisch reines, chlorfreies Serin. Ausb. 0,62 g (61,5% d. Th.).

5. Threonin aus Acetaminomalonsäure: Der Ansatz aus 8,05 g (0,05 Mol) Acetaminomalonsäure, 15 g (0,34 Mol) frisch dest. Acetaldehyd und 5 g (0,05 Mol) Triäthylamin verhält sich dem unter 4. beschriebenen analog. Der bei entsprechender Aufarbeitung nach Eindampfen der mit Ammoniak auf p_H 8 gebrachten Lösung verbleibende Rückstand wird in wenig siedendem Äthanol gelöst. Beim Abkühlen fallen etwa 2 g Ammoniumchlorid aus, beim Einengen ferner geringe Mengen an Triäthylamin-hydrochlorid. Die nach Entfernen der Salze erhaltene Lösung scheidet auf Zusatz von überschüss. Chloroform eine erste Fraktion Threonin als farblosen Niederschlag ab und liefert beim Einengen im Vak. auf dem Dampfbad eine weitere Fraktion als braunen Sirup, der beim Stehenlassen unter absol. Äther im Kühlschränk kristallisiert. Gesamtausbeute 3 g (50,4% d. Th.). Das Produkt enthält nach der Papierchromatographie geringe Spuren von Glycin.

6. α -Amino- β -hydroxy-carbonsäuren aus Acetaminomalonsäure-monomethylester

Sämtliche Synthesen wurden im 0,1 mol. Maßstab in Gegenwart von Triäthylamin bei Raumtemperatur durchgeführt; in manchen Fällen kam ein Überschuß des Aldehyds zur Anwendung. Die Ansätze und Aufarbeitungen entsprachen im großen und ganzen den nachfolgend für das Serin ausführlich beschriebenen. Aus jeweils 17,5 g (0,1 Mol) Acetaminomalonsäure-monomethylester, 10 g (0,1 Mol) Triäthylamin und den unter a)–h) angegebenen Mengen an Aldehyd wurden gewonnen

a) Serin: 20 g 40proz. Formalin. Das Gemisch von Halbester und Aldehyd wurde portionsweise mit Triäthylamin versetzt. Beim Umschütteln löste sich der Halbester unter Erwärmung und Gasentwicklung auf. Nach 24 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde die gelbliche Lösung im Vak. zu einem Sirup eingedampft, dieser mit 50 cm³ konz. Salzsäure 1 Stde. gekocht, die braune Lösung im Vak. auf dem Dampfbad eingedampft, der sirupöse Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit Ammoniak auf p_H 8–9 gebracht. Beim erneuten Eindampfen im Vak. auf dem Dampfbad entstand eine hellbraune Kristallmasse, die 20 Min. mit Tierkohle in wenig Wasser gekocht wurde. Nach Abfiltrieren der Tierkohle wurde das Filtrat bis zur beginnenden Abscheidung des Serins mit Äthanol versetzt; zu ihrer Vervollständigung wurde auf –20° gekühlt und darauf das Serin abgenutscht. Es war papierchromatisch einheitlich, enthielt nur Spuren von Ammoniumchlorid und wurde durch Umkristallisieren aus Alkohol/Wasser ganz rein erhalten. Ausb. 7,3 g (72,3% d. Th.).

b) Threonin: 20 g (0,5 Mol) frisch dest. Acetaldehyd; 60stdg. Reaktionsdauer; Umkrist. aus Wasser/Äthanol. Ausb. 6,3 g (53% d. Th.).

c) 3-Hydroxy-norvalin: 11,6 g (0,2 Mol) frisch dest. Propionaldehyd. Der nach Eindampfen der ammoniakal. Lösung verbliebene Rückstand wurde in 60 cm³ Wasser gelöst, mit Tierkohle gekocht, filtriert und das noch heiße Filtrat mit 85 cm³ Äthanol versetzt. Bei Kühlung schied sich papierchromatographisch reines, ammoniumchloridfreies 3-Hydroxy-norvalin ab. Umkrist. aus Wasser/Äthanol. Ausb. 5,8 g (43,6% d. Th.).

$C_5H_{11}NO_3$ (133,2) Ber. C 45,10 H 8,33 N 10,52
Gef. C 45,28 H 8,46 N 10,99

d) 3-Hydroxy-norleucin: 14,4 g (0,2 Mol) frisch dest. n-Butyraldehyd. Das nach Eindampfen der ammoniakal. Lösung erhaltene bräunliche kristallisierte Produkt wurde durch Umkristallisieren aus Wasser in die reine Aminosäure übergeführt. Ausb. 7,6 g (51,3% d. Th.).

$C_6H_{13}NO_3$ (147,2) Ber. C 48,96 H 8,90 N 9,52
Gef. C 48,93 H 8,91 N 9,75

e) 2-Amino-3-hydroxy-önanthensäure: 10 g (0,12 Mol) frisch dest. n-Valeraldehyd. Der nach Einengen der ammoniakalischen Lösung erhaltene harzige Rückstand wurde mit Wasser ausgekocht. Die filtrierte Lösung schied beim Abkühlen bereits die papierchromatographisch einheitliche, salzfreie Aminosäure ab, die aus Wasser oder Wasser/Äthanol umkristallisiert werden kann. Ausb. 1,7 g (10,8% d. Th.).

