

Die Synthese des Betonicins und Turicins.

Von

A. Küng.

(Mitteilung aus dem chemischen Laboratorium der Kantonsschule Solothurn, Schweiz.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. April 1913.)

Kurze Zeit nachdem Schulze und Trier¹⁾ in *Betonica officinalis* ein neues Betain entdeckt hatten, dem sie den Namen Betonicin gaben, habe ich im Einverständnis mit Professor Schulze mit Versuchen in synthetischer Richtung begonnen. Das Betonicin (als Chlorhydrat isoliert) wurde von genannten Forschern als ein Oxystachydrin (Dimethylbetain des Oxyprolins) aufgefaßt. Die zuerst erhaltene Substanz war reines Betonicinchlorid. Später ließ sich dann zeigen, daß die bei einer zweiten Untersuchung erhaltenen Präparate nicht einheitlich waren, sondern ein Gemisch zweier entgegengesetzt drehender isomerer Basen darstellten, dessen Aufteilung Gegenstand obiger Abhandlung bildete.

Als Ausgangsmaterial diente mir das Oxyprolin, das E. Fischer zuerst unter den Hydrolyseprodukten des Leims²⁾ entdeckte. Diese Oxyaminosäure ist seither in einer ganzen Reihe anderer Proteine aufgefunden worden. E. Fischer hat das Oxyprolin reduziert und dabei α -Prolin erhalten, dessen Konstitution bekannt war. Fraglich war noch die Stellung der Hydroxylgruppe in Kerne.

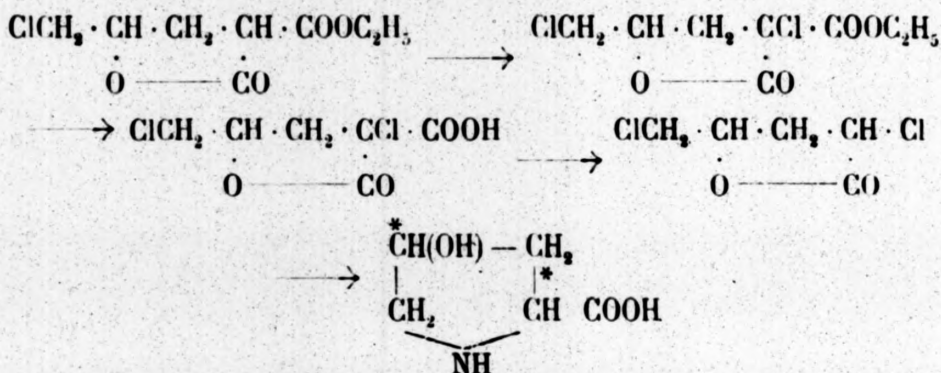
Durch die schönen Untersuchungen von H. Leuchs und seinen Mitarbeitern ist die Konstitution des natürlichen Oxyprolins als die eines γ -Oxyderivates der Pyrrolidin- α -carbonsäure³⁾ einwandfrei bestimmt worden. Als Ausgangsmaterial für die Synthese diente der δ -Chlor- γ -valeronlacton-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 76, S. 258 (1912), und Bd. 79, S. 235 (1912).

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 35, S. 2660 (1902).

³⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 38, S. 1937 (1905); Bd. 41, S. 1726 (1908); Bd. 45, S. 1962 (1912); Bd. 46, S. 986 (1913).

α -carbonsäureester. Dieser wurde chloriert und in das α,δ -Dichlor-valerolacton verwandelt, das mit wässrigem Ammoniak zwei stereoisomere γ -Oxy- α -proline (a und b) lieferte.



Die Spaltung des Racemkörpers gelang durch Überführung der a-Form in die saure Verbindung mit Phenylisocyanat, welche über das Chininsalz zum gewünschten Ziele führte.

Meine synthetischen Versuche haben die Auffassung von Schulze und Trier bestätigt, daß das von ihnen entdeckte neue Betain tatsächlich als ein Oxyprolinbetain zu betrachten ist. Bei der erschöpfenden Methylierung von natürlichem Oxyprolin wurde sogar dasselbe Gemisch links- und rechtsdrehender Verbindungen erhalten, wie es im Rohbetain aus *Betonica officinalis* vorlag, und dieselbe Trennungsmethode, welche wir zur Aufteilung jenes Gemisches pflanzlicher Betaine benützten, hat auch die Trennung des synthetischen Betonicins vom Turicin in dem Gemenge ermöglicht.

Endlich wurden die synthetischen Präparate mit den natürlichen und ihren Derivaten verglichen und in allen Teilen als identisch befunden.

Das Betonicin ist dem Turicin isomer. Obwohl die Werte für die spezifische Drehung sowohl in Form der Chloride, als auch in Form der freien Basen den Anschein erwecken, als läge Spiegelbildisomerie vor, so erscheint dennoch diese Annahme nicht berechtigt, da beide Basen und ihre Derivate zu verschieden aussehen und ungleiche Löslichkeit aufweisen. Die Chlorhydrate zeigen allerdings große Ähnlichkeit, aber da keine krystallographischen Messungen gemacht wurden, so kann hierüber auch nichts Bestimmtes an-

gegeben werden. Vielleicht ist von den beiden asymmetrischen Kohlenstoffatomen nur ein Atom racemisiert worden. Welcher Art die Isomerie zwischen Betonicin und Turicin ist, soll noch genauer untersucht werden. Es ist deshalb richtiger, die beiden Basen mit verschiedenen Namen zu bezeichnen.

Die Beschaffung des notwendigen Oxyprolins bietet keine erheblichen experimentellen Schwierigkeiten, doch bedarf es für dessen Isolierung eines recht umständlichen Scheidungsverfahrens, das von E. Fischer ausgearbeitet wurde, und dessen ich mich stets bediente.

Ich habe in zwei getrennten Operationen je 500 g reinste Gelatine (Marke Golddruck) mit konzentrierter Salzsäure hydrolysiert, auf bekannte Weise verestert, in der Kälte das Glykokoll als in absolutem Alkohol schwer lösliches Estersalz abgeschieden und die übrigen Ester in alkalischer Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Man säuert die von den Estern teilweise befreite Lösung an, dampft wieder ein (Vakuum), und entfernt die massenhaft auskristallisierenden anorganischen Salze durch Mazerieren mit absolutem salzsäurehaltigem Alkohol. Nun wird die Veresterung usw. nochmals in gleicher Weise durchgeführt. Den wässerigen Rückstand befreit man durch mehrmaliges Eindampfen von einem Teil der Salzsäure und entfernt den Rest durch Silber. An Stelle von Silbersulfat trage ich frisch gefälltes Silberoxyd in die schwefelsaure Lösung ein.¹⁾ Schwefelwasserstoff fällt das in Lösung gegangene Silber und Phosphorwolframsäure (für 1000 g Gelatine ca. 1 bis 1½ kg) endlich die Diaminosäuren. Nachdem das Filtrat der Lösung von Baryt und Schwefelsäure befreit ist, wird eingeeengt, wobei das Oxyprolin in der Regel rasch auskristallisiert. Die Ausbeute an Rohprodukt vom Schmelzpunkt 252 bis 255° betrug aus den ersten 500 g Gelatine 24 g, aus der zweiten Hälfte erhielt ich noch etwas mehr, dafür war das Präparat nicht so rein wie das erste. Einmaliges Umkristallisieren aus Wasser genügte, um ein reines Oxyprolin vom Schmelzpunkt 270° zu erhalten, das in prachtvollen, flachen,

¹⁾ Statt Silbersulfat läßt sich auch Bleioxyd verwenden (H. Leuchs).

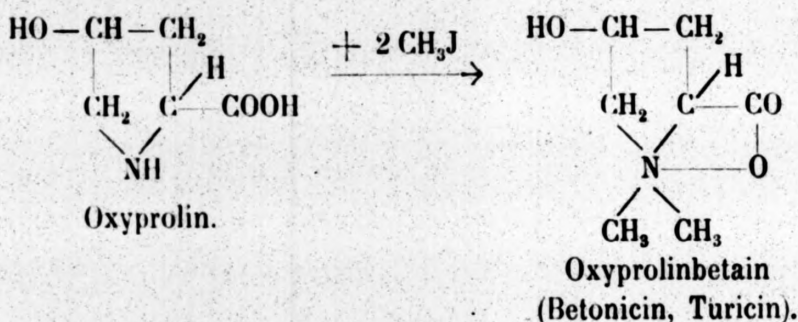
schief abgeschnittenen, rhombischen, durchsichtigen Tafeln auskristallisiert. Zur Kontrolle wurde die Substanz noch im polarisierten Lichte untersucht. ¹⁾

1,2882 g Subst. in 50,4704 g Wasser (2,49%); $s = 1,009$.

$\alpha_D = -4,26^\circ$ im 2,2 dm-Rohr.

$[\alpha]_D = -77,05^\circ$ (E. Fischer fand $[\alpha]_D^{20^\circ} = -81,04^\circ$).

Die Methylierung des Oxyprolins vollzog sich nach folgendem Schema:



Das Oxyprolin wurde in verdünntem Holzgeist gelöst. In diese Lösung trägt man abwechselnd und portionenweise methylalkoholische Kalilauge und Jodmethyl ein, bis bei Gegenwart unverbrauchten Jodmethyls die alkalische Reaktion einige Zeit stehen bleibt, wozu das 1 $\frac{1}{2}$ fache der theoretisch erforderlichen Menge genügt. Zum Schlusse wird noch ca. 1 Stunde unter Rückfluß gekocht, eventuell unter erneuter Zugabe von Jodmethyl und Lauge. Nach beendigter Reaktion dampft man zur Trockene ein.

Von der Annahme ausgehend, es werde auch die Hydroxylgruppe des Kerns methyliert, habe ich den Rückstand direkt mit starker Jodwasserstoffsäure unter Rückfluß gekocht. Diese Verseifung erwies sich als überflüssig, wie spätere Versuche lehrten, wo Methoxylbestimmungen ausgeführt wurden, da der zu erwartende Äther bei den gewählten Versuchsbedingungen gar nicht gebildet wird. Nachdem die Jodwasser-

¹⁾ H. Leuchs u. J. F. Brewster fanden sowohl für das natürliche, als auch für das synthetische Oxyprolin stets um einige Grade tiefere Werte als E. Fischer. Da unter den verschiedensten Bedingungen immer nur eine Drehung von -76° erreicht wurde, halten sie diesen Wert einstweilen für den zuverlässigeren.

stoffsäure im Vakuum zum größten Teil abdestilliert war, wurde durch Einleiten von Schwefelwasserstoff das ausgeschiedene Jod zu Jodwasserstoff reduziert und mit Bleiacetat und zuletzt mit Silberoxyd das Jod entfernt. Schwefelwasserstoff fällt die gelösten Schwermetalle aus. Nun wird unter Zusatz von Salzsäure mehrmals eingedampft, bis die Essigsäure vollkommen verdrängt ist. Aus dem scharf getrockneten Rückstande, der das neue Betain nebst viel Chlorkalium enthält, läßt sich letzteres durch Auskochen mit absolutem Alkohol und Auswaschen bis zum Verschwinden der Fichtenspanreaktion leicht abscheiden. Die in Wasser gelösten Chloride lieferten im Exsikkator Krystalle, welche durch Abpressen auf Ton sich von der sirupösen Mutterlauge befreien ließen. Das zweimal aus absolutem Alkohol umkrystallisierte Salz bildet schöne, prismatische Nadeln und ist linksdrehend, wie zu erwarten war.

$$[\alpha]_D = - 24,1^\circ.$$

Dieses synthetische Präparat erwies sich auch in den Derivaten als völlig identisch mit dem aus *Betonica* erhaltenen salzsauren Betonicin. Aus 3 g Oxyprolin erhielt ich nur 1,5 g reines Betonicinchlorhydrat.¹⁾

In einem zweiten Versuch wurden 5 g Oxyprolin in gleicher Weise methyliert, doch ohne mit Jodwasserstoffsäure zu kochen. Nach Abtrennung des Chlorkaliums erhielt ich 4 g Chlorid, das sich als hygroskopisch²⁾ erwies und keinen scharfen Zersetzungspunkt zeigte. Die aus dem Chlorid hergestellte Base bildete aus Alkohol schöne Krystalle, welche auffallenderweise Rechtsdrehung gaben. $[\alpha]_D = + 19,9^\circ$. Das spezifische Drehvermögen stieg nach einmaliger Umkrystallisation aus gewöhnlichem siedendem Alkohol auf $+ 29,29^\circ$. Mangel an Material verhinderte eine weitere Reinigung, doch erwies sich diese Base und ihre Salze später als identisch mit dem Turicin.

Mittlerweile war es uns gelungen, das aus *Betonica officinalis* erhaltene Rohbetain aufzuteilen, wobei wir zwei Ver-

¹⁾ Diese geringe Ausbeute wird aus unten angeführter Tatsache leicht verständlich.

²⁾ Die unreinen Betaine sind meistens hygroskopisch.

bindungen von entgegengesetzter optischer Drehung erhielten. Wir mußten nun annehmen, daß dasselbe Gemisch, wie es in *Betonica officinalis* angetroffen wurde, auch bei der Methylierung von Oxyprolin entstanden sei. Im ersten Versuche wurden die Chloride auf Ton gestrichen und dann zweimal aus absolutem Alkohol umkrystallisiert. Hierbei blieb nur das schwerer lösliche, linksdrehende Betonicin zurück, während das leichter lösliche, sirupöse Turicinchlorid in den Tonteller einging.

In meinem zweiten Versuche gelangte das Gemisch der Chloride zur Abscheidung (4 g), und als diese nicht schön krystallisierten, wurde in die freien Basen zurückverwandelt. Nun schied sich die schwer lösliche Turicinbase zuerst aus und die leichter lösliche Betonicinbase blieb in der Mutterlauge.

Zwei weitere Versuche haben dieses Verhalten bestätigt. In dem einen wurde das Gemisch (Trockenrückstand) polarisiert. Es zeigte sich nur eine minimale Linksdrehung — das Gemisch bestand also offenbar aus etwa gleichen Mengen Betonicin und Turicin. Als nun mit etwas absolutem Alkohol verrieben wurde, blieb ziemlich reines Betonicinchlorid zurück

$$([\alpha]_D = - 19,72^\circ),$$

während das Turicinchlorid in Lösung ging, das nach Rückverwandlung in die freie Base und zweimaliger Krystallisation aus siedendem Alkohol rein erhalten wurde.

Daß das Trennungsverfahren, wie es für das Rohbetain aus *Betonica officinalis* von uns ausgearbeitet wurde, auch zur Trennung des synthetisch erhaltenen Gemisches dienlich ist, möge durch ein Beispiel erhärtet werden:

Das von den anorganischen Salzen befreite Chloridgemisch wird in die freien Basen übergeführt und in siedendem gewöhnlichem Alkohol gelöst.

I. Krystallisation: Körnige Krystalle. Z. P. = $245,5^\circ$
 $[\alpha]_D = + 29,95^\circ$. Einmal umkrystallisiert: Z. P. = 249° .
 $[\alpha]_D = + 34,97^\circ$. Das Turicin war also ziemlich rein.

II. Krystallisation: $[\alpha]_D = - 17,69^\circ$. Nochmals aus Alkohol umkrystallisiert: $[\alpha]_D = - 19,32^\circ$.

III. Krystallisation: $[\alpha]_D = - 15,87^\circ$.

Werden die linksdrehenden Fraktionen vereinigt und in Chloride verwandelt, so gelingt es, das Betonicin als schwerlösliches Chlorhydrat rein zu erhalten.

Ein Vergleich der synthetisch dargestellten Basen und ihrer Salze mit dem aus *Betonica officinalis* erhaltenen Turicin und Betonicin ergab vollständige Identität.

Das Turicin, $C_7H_{13}NO_3 + H_2O$, bildet aus Alkohol stets jene charakteristischen, durchsichtigen, nicht hygroskopischen, flachen Prismen vom Zersetzungspunkt 249° . Die Base reagiert neutral und gibt intensive Fichtenspanreaktion. Auch im Gemisch mit natürlichem Turicin konnte keine Schmelzpunktsdepression beobachtet werden. Es verliert im Exsikkator leicht das Krystallwasser und wird weiß.

0,4858 g Substanz bei 105° : 0,0488 g H_2O .

Ber. für $C_7H_{13}NO_3, H_2O$; $H_2O = 10,17$; gef. = 10,04.

0,2152 g Substanz in 6,0 ccm Wasser gelöst (3,46%)

$\alpha_D = + 1,21^\circ$ im 1 Dez.-Rohr

$[\alpha]_D = + 34,97^\circ$.¹⁾

Das Chlorhydrat krystallisiert aus absolutem Alkohol in feinen Nadeln. Gelegentlich erhielt ich auch längere Prismen. Z. P. = 222° .

Das Chloraurat, aus Wasser umkrystallisiert, schießt nach kurzer Zeit in prachtvollen, glänzenden, zu Drusen vereinigten Krystallprismen an. F. P. = 232° (unter Zersetzung). Zur Analyse wurde die Substanz bei 105° getrocknet.

1. 0,4357 g verascht: 0,1707 g Gold.

2. 0,2364 » » : 0,0928 » »

3. 0,2545 » Substanz: 0,0754 H_2O und 0,1584 CO_2 .

4. 0,6946 » » : 0,1865 H_2O » 0,4390 CO_2 .

5. 0,2249 » » : 5,3 ccm N_2 (10° und 722 m/m).

Ber. für $C_7H_{13}NO_3, HAuCl_4$. Gef.

C = 16,83 4. 17,24 und 3. 16,98.

H = 2,83 4. 3,03 » 3. 3,31.

N = 2,81 5. 2,71.

Au = 39,53 1. 39,18, 2. 39,26.

¹⁾ In etwas feuchtem Zustande gewogen.

Das Betonicin, $C_7H_{13}NO_3$, krystallisiert aus gewöhnlichem Alkohol leicht und bildet stets bei langsamer Verdunstung vierseitige kurze Prismen, welche den aus *Betonica* erhaltenen vollkommen entsprechen. Z. P. = 243° . Neutral, süß, gibt intensive Fichtenspanreaktion. Optisch aktiv. Enthält kein Krystallwasser (aus Alkohol).

Das Chlorhydrat ist in Wasser spielend leicht löslich, leicht löslich in siedendem, schwer in kaltem, absolutem Alkohol. Aus Wasser krystallisiert es in feinen Prismen. Es reagiert sauer, ist nicht hygroskopisch und optisch aktiv.

0,2893 g in 31 ccm Wasser gelöst (0,925 %) $\alpha_D = -0,49^\circ$ im 2,2 Dez.-Rohr.

$$[\alpha]_D = -24,1^\circ.$$

Aus *Betonica officinalis* (siehe vorige Abhandlung)

$$[\alpha]_D = -24,79^\circ.$$

Das Goldsalz. Aus Wasser wurde es in schönen, hellgelben, zu Drusen vereinigten Krystallblättchen erhalten. Z. P. = $230-232^\circ$.

0,7148 g Substanz: 0,2806 g Au.

0,6764 „ „ : 0,2662 „ Au.

Ber. für $C_7H_{13}NO_3, HAuCl_4$; Au = 39,53; gef. = 39,25 und 39,35.

Das Chloroplatinat wurde aus Wasser in bichromat-roten Krystallprismen erhalten, die meist zu Kreuzungszwillingen verwachsen sind. Z. P. = 225° .

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem Freunde, dem Privatdozent Dr. G. Trier, für seine Ratschläge aufrichtigen Dank auszusprechen.