

176. Theodor Wieland und Kurt Freter: Über Aminothiosäuren, III. Mittel.*): Thio- β -alanin und homologe ω -Amino-thiosäuren

[Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.]

(Eingegangen am 28. Mai 1954)

Thio- β -alanin und ϵ -Amino-thiocaprionsäure konnten aus den Thiophenylestern der entsprechenden schwefelfreien Aminosäuren mit Schwefelwasserstoff kristallisiert dargestellt werden. Die beiden Verbindungen erleiden bereits bei Zimmertemperatur Polykondensation. γ -Amino-thiobuttersäure war nicht zu erhalten, da sich der freie Thiophenylester der γ -Amino-buttersäure sehr rasch zu Pyrrolidon cyclisiert.

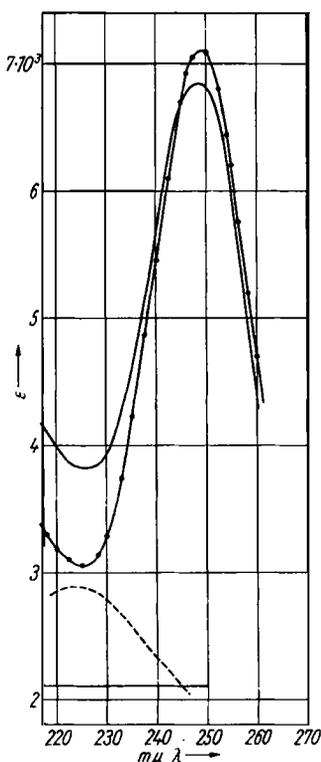
Die Thio-Analogen der α -Aminosäuren lassen sich aus α -Aminoacyl-thiophenolen durch Thiohydrolyse mit Schwefelwasserstoff in verschiedenen Lösungsmitteln darstellen, worüber in der II. Mittel. berichtet wurde*). Hier beschreiben wir nun die Bedingungen, die bei der Anwendung des geschil- derten Reaktionsprinzips auf β -Alanin und ϵ -Amino-caprionsäure zum Ziel ge- führt haben. Auch hierbei geht man von den entsprechenden Aminoacyl- thiophenolen aus, die als Hydrochloride aus den Aminosäurechlorid-hydro- chloriden und Thiophenol kristallisiert erhalten wurden.

β -Alanin-thiophenol setzt sich in wäßrig alkalischer Lösung mit Schwefel- wasserstoff bereitwillig um, worüber die Papierchromatographie rasch Auf- schluß verschafft. Doch führt hier die beim α -Alanin zuerst angewandte Auf- arbeitsweise infolge der Alkohollöslichkeit des Thio- β -alanins nicht zum Erfolg. Erst wenn man Wasser im Lösungsmittel völlig ausschließt, und aus dem Hydrochlorid die Thioesterbase durch Umsetzung mit Triäthylamin in trockenem Benzol in Freiheit setzt, kann nach Einleiten von Schwefelwasser- stoff die neue Aminothiosäure in reiner kristallisierter Form gewonnen werden.

Thio- β -alanin zeigt äußerlich große Ähnlichkeit mit der α -Verbindung in der wohlausgebildeten Form seiner Kristalle und seinem hohen Zersetzungspunkt (ab 300° Bräunung, bei 350° Zersetzung), der für eine Zwitterionen- struktur spricht. Andererseits hat es im Methanol und Äthanol eine beträcht- liche Löslichkeit. Dies deutet an, daß der Zwitterionencharakter hier etwas abgeschwächt ist. Das kommt auch im UV-Spektrum zum Ausdruck, das, in Wasser gemessen, mit dem Verlauf des α -Analogen übereinstimmt. Die mo- laren Extinktionswerte am Minimum (225 μ) und Maximum (350 μ) sind aber bei der β -Verbindung deutlich von denen der α -Verbindung verschieden (Abbild. 1). Wir führen die erheblich höhere Absorption zwischen 220 und 230 μ darauf zurück, daß im Thio- β -alanin ein meßbarer Anteil der Mole- keln in der unpolaren Form, $H_2N \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COSH$, vorliegt, von welcher die COSH-Gruppe in diesem kurzen Wellenbereich absorbiert. Die Differenzkurve aus beiden Spektren, die in Abbild. 1 gestrichelt eingezeichnet ist, bringt deut- lich dieses verkappte Maximum zum Ausdruck, dessen Lage mit dem des Thio- α -alanins in saurer Lösung übereinstimmt¹⁾.

*) II. Mittel.: Th. Wieland, D. Sieber u. W. Bartmann, Chem. Ber. 87, 1093 [1954], vorstehend. ¹⁾ Th. Wieland u. D. Sieber, Naturwissenschaften 40, 242, 300 [1953].

Als Derivate haben wir die Dinitrophenyl-Verbindung (DNP-) des Thio- β -alanins und die bisher noch nicht beschriebene des β -Alanins nach der bekannten Vorschrift dargestellt. Im orientierenden Versuch wurde weiterhin



Abbild. 1. UV-Absorptionsspektren von Thio- α -alanin (---) und Thio- β -alanin (—) in Wasser. Molare Extinktionen ϵ zwischen 220 und 270 $m\mu$. (Zur unteren Kurve): Differenzen der Extinktionen

der DNP-Derivate bei 366 $m\mu$ ermittelt werden. Voraussetzung für die Zuverlässigkeit der damit ermittelten Werte ist die Abwesenheit cyclischer Polymerer, die auch hier nicht ausgeschlossen werden können. Eine Chance zu ihrer Erkennung besteht darin, daß man das DNP-Produkt aus einem geeigneten Lösungsmittel fraktioniert ausfällt, in der Hoffnung, das farblose Cyclopeptid in einer anderen Fraktion anzureichern als die geradkettigen DNP-Peptide. Ein solches Fällen mit Ammoniumsulfatlösung aus wasserfreier Ameisensäure ergab mehrere Fraktionen, deren Polymerisationsgrad kolorimetrisch zwischen 11.4 und 13.4 ermittelt wurde; somit scheint hier kein cyclisches Polymerisat gebildet worden zu sein. Eine Bestimmung des

Diazomethan in Äther auf beide gepulverte Aminosäuren zur Einwirkung gebracht und im Falle des β -Alanins dessen Ester papierchromatographisch als Reaktionsprodukt nachgewiesen, im anderen Fall eine Substanz erhalten, die sich durch den bei der Berührung mit Wasser auftretenden Mercaptangeruch als labile SCH_3 -Verbindung verriet.

Im Gegensatz zu den α -Amino-thiosäuren erleidet Thio- β -alanin schon beim Aufbewahren der trockenen Kristalle bei Raumtemperatur, schneller beim Erwärmen, eine Umwandlung, bei der unter Schwefelwasserstoff-Abspaltung ein in Wasser, Alkohol und Äther unlösliches amorphes Produkt entsteht, dem wir die Konstitution



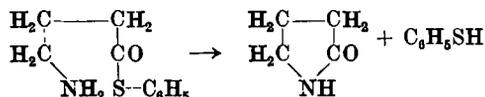
zuschreiben.

Diese Reaktion, eine Polykondensation, bleibt aus, wenn man die wäßrige Lösung des Monomeren längere Zeit erhitzt. Der im trockenen Zustand erzielte Polymerisationsgrad scheint von mehreren Bedingungen abhängig zu sein, die wir nicht im einzelnen untersucht haben. Das Molekulargewicht der Produkte konnte, ähnlich wie bei α -Polypeptiden²⁾, durch Absorptionsmessung

²⁾ Th. Wieland u. H. Bernhard, Liebigs Ann. Chem. 582, 218 [1953].

bei der Polykondensation zu Dodeka-thio- β -alanin entbundenen Schwefelwasserstoff ergab unter 50 % der ber. Menge, dafür enthielt das Polykondensat statt der erwarteten 4 % etwa 17 % Schwefel. Diese ließen sich i. Vak. bei 100° über Kaliumhydroxyd jedoch bis auf 5 % als Schwefelwasserstoff austreiben, womit die Bilanz befriedigend geklärt und gleichzeitig gezeigt wurde, daß von Polypeptiden nicht nur Wasser, sondern auch Schwefelwasserstoff hartnäckig festgehalten werden kann.

Im Anschluß an die erfolgreiche Synthese von Thio- β -alanin wurde dann versucht, die homologe γ -Amino-thiobuttersäure zu erhalten. Die Bereitung des Hydrochlorids von γ -Amino-butyryl-thiophenol nach ähnlicher Vorschrift wie beim β -Alanin bereitete keine Schwierigkeiten. Versuchte man aber aus diesem Salz in Benzolsuspension mit Triäthylamin zum Zweck der anschließenden Thiohydrolyse die freie Base zu gewinnen, so trat sofort starker Thiophenolgeruch auf. Aus der Lösung fiel beim Einleiten von Schwefelwasserstoff keine Amino-thiosäure aus, sondern es ließ sich Pyrrolidon isolieren. Der Grund für diesen Mißerfolg ist, ähnlich wie bei Dipeptid-thiophenylestern²⁾ die räumlich günstige Anordnung von NH_2 - und COSC_6H_5 -Gruppe, die in äußerst rascher Reaktion unter Thiophenolabspaltung die Cyclisierung herbeiführt:



Diese Bildung des Pyrrolidons, die auch in wäßrig-alkalischer Lösung in der Kälte erfolgt, ist ein typisches Beispiel für die leichte Aminolysierbarkeit der COSR-Bindung; sie macht jedoch die Gewinnung der gewünschten Thiosäure auf diesem Wege unmöglich.

In Voraussicht einer ähnlichen Schwierigkeit bei der homologen δ -Verbindung haben wir Versuche zu deren Synthese von vorneherein unterlassen. Hingegen versprach die Darstellung der ϵ -Amino-thiocapronsäure aus sterischen Gründen wieder Erfolg. In der Tat begegnete diese Reaktion auf dem hier bewährten Weg keiner Schwierigkeit. ϵ -Amino-caproyl-thiophenol-hydrochlorid ließ sich aus dem Chlorid-hydrochlorid der langkettigen Aminosäure mit guter Ausbeute gewinnen. Die Thiohydrolyse unter den angegebenen Bedingungen verlief erwartungsgemäß und lieferte ϵ -Amino-thiocapronsäure als farbloses Kristallisat. Im UV-Spektrum ähnelt sie dem Thio- β -alanin; beim Erwärmen auf 80° kondensiert sie sich schon innerhalb von 30 Min. zu einem in fast allen Lösungsmitteln unlöslichen Produkt, welches mit dem technisch dargestellten Perlon nahe verwandt sein dürfte. Auf seine eingehende Untersuchung haben wir verzichtet.

Beschreibung der Versuche

Thio- β -alanin

β -Alanyl-thiophenol-hydrochlorid³⁾ wurde aus dem Chlorid-hydrochlorid mit der 4fachen Gewichtsmenge an trockenem Thiophenol in einigen Tagen bei 40° durch Ausfällen mit Äther kristallin mit bis zu 80% Ausbeute erhalten. Es kann aus Methanol umkristallisiert werden; Schmp. 132°. Im folgenden wurde das Rohprodukt verwendet.

Umsetzung mit Schwefelwasserstoff: 1 g des oben erhaltenen Salzes wurden feinst gepulvert, in 50 ccm absol. Benzol bei 0° mit 2 ccm Triäthylamin kräftig geschüt-

³⁾ E. Bokelmann, Dissertat. Mainz, 1952; Th. Wieland u. H. Köppe, Liebigs Ann. Chem. 588, 21 [1954].

telt und rasch abgesaugt. In die klare Lösung leitete man unter Kühlung 2 Stdn. lang Schwefelwasserstoff ein, goß die Mutterlauge vom glasigen Sirup ab und rieb diesen mit wenig absol. Äthanol zum Kristallisieren an. Die Kristalle wurden rasch abgesaugt und mit Alkohol, dann mit Äther gewaschen; Ausb. 200 mg (40% d.Th.) vom Zersp. ab 350°. Durch Umkristallisieren aus Wasser erhielt man lange Nadeln.

C_3H_7ONS (105.2) Ber. C 34.26 H 6.71 N 13.32 Gef. C 34.51 H 7.22 N 13.80

Im Papierchromatogramm, in dem die Verbindung in zahlreichen Lösungsmitteln größere R_F -Werte als β -Alanin zeigte, gab sie mit Ninhydrin einen in der Mitte gelben, außen blauvioletten Fleck.

DNP-thio- β -alanin: 0.5 g der Thiosäure wurden in einigen ccm Wasser unter Zugabe der äquivalenten Menge Natriumhydrogencarbonat gelöst, mit 1.5 g 2.4-Dinitrofluorbenzol versetzt und dann mit Methanol bis zur Homogenität verdünnt. Nach 1 Stde. wurde das Methanol i. Vak. entfernt, die Lösung mit Salzsäure angesäuert und die ausgeschiedene DNP-Verbindung aus Methanol umkristallisiert; Schmp. 215°. Das in analoger Weise gewonnene DNP- β -alanin schmilzt bei 145°.

Poly-thio- β -alanin: Einige Gramm Thio- β -alanin wurden 48 Stdn. auf 100° erhitzt, mit Wasser mehrmals ausgezogen und mit Alkohol und Äther gewaschen. Das trockene Produkt war unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Benzol, Chloroform, Eisessig und Kresol, löslich in wasserfreier Ameisensäure. Sein DNP-Derivat, das man durch mehrstäbiges Stehenlassen der Aufschlammung in Tetrahydrofuran mit Dinitrofluorbenzol, Absaugen und Waschen bis zur Farblosigkeit erhielt, zeigte gleiche Löslichkeitseigenschaften. Zur Fraktionierung wurden 50 mg in wenig ccm wasserfreier Ameisensäure gelöst und mit konz. wäbr. Ammoniumsulfatlösung portionsweise ausgefällt. Die (3) Fällungen wurden durch Zentrifugieren abgetrennt und mit Wasser und Alkohol mehrmals gewaschen, dann über Schwefelsäure getrocknet. Ihre Lösungen in wasserfreier Ameisensäure zeigten nahezu dieselbe Absorption (bei 366 m μ), bezogen auf DNP-thio- β -alanin etwa $\frac{1}{12}$ der molaren Extinktion. Daraus errechnet sich für alle ein durchschnittlicher Polymerisationsgrad von 12. Produkte, die durch wochenlanges Aufbewahren bei Zimmertemperatur aus Thio- β -alanin entstanden waren, erwiesen sich nach dieser Methode als viel höher molekular.

γ -Amino-butaryl-thiophenol-hydrochlorid: Die Darstellung dieser Verbindung erfolgte genau wie beim β -Alanin angegeben; Schmp. 112°.

Überführung in Pyrrolidon: 0.5 g des Salzes wurden in wenig Wasser gelöst und mit der ber. Menge konz. Sodalösung versetzt. Es bildete sich sofort eine Emulsion von Thiophenol, das mit Äther ausgeschüttelt wurde. Daraufhin wurde die wäbr. Lösung i. Vak. zur Trockne gedampft, der Salzurückstand mit Chloroform extrahiert und aus diesem nach Einengen durch Abkühlen das Hydrat des Pyrrolidons in Kristallen abgeschieden. Diese schmolzen, auch im Gemisch mit einer authentischen Probe ohne Ernidrigung, bei 30°.

ϵ -Amino-thiocapronsäure

ϵ -Amino-caproyl-thiophenol-hydrochlorid: Das Hydrochlorid des ϵ -Aminocapronsäurechlorids erhielt man aus der Säure beim Schütteln in Acetylchlorid mit Phosphorpentachlorid, wobei alles in Lösung ging. Zur Isolierung des Chlorids goß man in Äther und erhielt eine praktisch quantitative Ausbeute. Dieses Chlorid wurde, wie oben angegeben, mit Thiophenol einige Zeit stehengelassen und dann durch Ätherzusatz das Esterhydrochlorid in Kristallen vom Schmp. 106° abgeschieden. Die Umsetzung zur Thiosäure mit Schwefelwasserstoff wurde genau wie beim Thio- β -alanin beschrieben ausgeführt. Auch hier erhielt man 30–40% kleiner Kristalle, die schwer vollständig rein zu gewinnen waren und keinen charakteristischen Schmelz- oder Zersetzungspunkt zeigten.

$C_6H_{13}ONS$ (147.3) Ber. C 48.93 H 8.91 N 9.51 Gef. C 47.7 H 8.82 N 9.18

Beim 30 Min. langem Erwärmen auf 80° gingen sie unter Schwefelwasserstoff-Entwicklung in eine in fast allen Lösungsmitteln, außer wasserfreier Ameisensäure, unlösliche amorphe Masse über.