

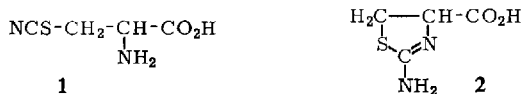
Manfred Rimpler und Alfons Schöberl

Notiz zur Kenntnis der 2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4) und ihrer Ester

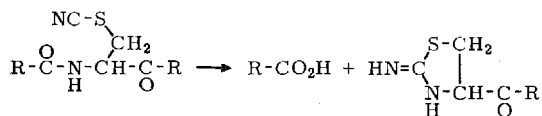
Aus dem Chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover

(Eingegangen am 21. Juli 1967)

Nach Mauthner¹⁾ soll durch Einwirkung von Kaliumcyanid auf Cystin neben Cystein die α -Amino- β -rhodan-propionsäure (**1**) entstehen. Wegen ihrer Bedeutung für cystinhaltige Peptide und Eiweißstoffe haben Schöberl und Ludwig²⁾ diese Reaktion näher untersucht und Eigenschaften von **1** gefunden, die die Anwesenheit einer freien Rhodangruppe ausschlossen. Die genaue Untersuchung führte zur Entdeckung der aus **1** durch Ringschluß gebildeten 2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4) (**2**)^{3,4)} (in der tautomeren Form geschrieben als 4-Carboxy-thiazolidon-(2)-imid) und zu neuen Synthesen in der Thiazolin-Chemie^{5,6)}.



Die biochemische Bedeutung dieses Reaktionsweges ist zuerst am Beispiel der Einwirkung von Kaliumcyanid auf Wolle untersucht und die Cystinabnahme in den Wollen bzw. Fibrillen durch eine Reaktion des Cyanids mit dem Wollkeratin erklärt worden⁷⁾. Die Entgiftung von Cyanidionen im Organismus von Ratten wurde von Wood und Cooley gezeigt, die **2** aus Urin nach subcutanen Cyanidgaben isolierten⁸⁾. Von besonderer Bedeutung war der Befund, daß bei Einwirkung von Cyanidionen die Peptidbindung an der Aminogruppe des Cystins gespalten wird⁹⁾. Deshalb kann der Reaktionstyp nach folgendem Schema zur Strukturbestimmung von Proteinen benutzt werden:



R = Rest der Peptidkette

¹⁾ J. Mauthner, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 18, 28 (1912).

²⁾ A. Schöberl und E. Ludwig, Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 1422 (1937).

³⁾ A. Schöberl und R. Hamm, Chem. Ber. 81, 210 (1948).

⁴⁾ A. Schöberl, M. Kawohl und R. Hamm, Chem. Ber. 84, 571 (1951).

⁵⁾ A. Schöberl und M. Kawohl, Mh. Chem. 88, 478 (1957).

⁶⁾ Knoll AG. (Erf. A. Schöberl), Dtsch. Bundes-Pat. 910650 (1951), C. 1955, 2256.

⁷⁾ A. Schöberl und R. Hamm, Biochem. Z. 318, 33 (1948); A. Schöberl, J. Textile Inst. 51, T 613 (1960).

⁸⁾ J. L. Wood und S. L. Cooley, J. biol. Chemistry 218, 449 (1956). Die Angabe von $[\alpha]_D^{29}$: -2.08° ist vielleicht auf Racemisierung während der Synthese zurückzuführen.

⁹⁾ J. L. Wood und N. Catsimpoolas, J. biol. Chemistry 238, PC 2887 (1963); N. Catsimpoolas und J. L. Wood, ebenda 239, 4132 (1964).

Hierbei sollte allerdings auch die mögliche alkalische Spaltung des Thiazolinringes und der Peptidbindung berücksichtigt werden.

Zur Synthese von Modellsubstanzen ist es erwünscht, geeignete Derivate von **2** darzustellen. Zunächst wurden verschiedene Ester gewonnen und in ihren Eigenschaften genauer charakterisiert. Im Gegensatz zu *Wood* und *Cooley*⁸⁾ gelang es nach der oxydativen Cyanidspaltung von L-Cystin³⁾ wiederum ohne weiteres, diesmal aber ohne Verwendung des schwer löslichen Kupferkomplexes, die Verbindung **2** mit der spezif. Drehung $[\alpha]_{589}^{23}$: -99.3° ($c = 1$; Wasser) und dem Zers.-P. $211-216^\circ$ herzustellen.

Die Hydrochloride des 2-Methyl- und 2-Äthylesters wurden nach der von *Brenner* und *Huber*¹⁰⁾ beschriebenen Veresterungsmethode gewonnen. Beides sind gut kristallisierte Substanzen mit erheblichen Drehwerten. Eine für den Äthylester von **2** beschriebene Methode⁸⁾ ließ sich nicht reproduzieren. Der Versuch, den tert.-Butylester von **2** nach einem für freie Aminosäuren beschriebenen Verfahren von *Taschner*, *Chimiak*, *Bator* und *Sokolowska*¹¹⁾ darzustellen, führte nur zu einem unbefriedigenden Ergebnis. Besser geeignet erwies sich hier die von *Roeske*¹²⁾ mitgeteilte Umsetzung mit Isobutylen.

Dem *Fonds der Chemischen Industrie* sei für Chemikalienspenden, der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für Bereitstellung von Forschungsmitteln gedankt.

Beschreibung der Versuche

Schwefel wurde nach der Methode von *Schöniger*¹³⁾, Chlorid durch potentiometrische Titration bestimmt. Die C,H-Analysen verdanken wir *J. Albert* aus dem Mikrochemischen Labor des Dept. of Biochemistry, Cornell University, Medical College, New York. Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Die spezif. Drehungen wurden mit einem Zeiss-Winkelpolarimeter 0.01° bestimmt.

L-2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4)-monohydrat: 100 g gereinigtes Cystin¹⁴⁾ und 81.5 g Kaliumcyanid werden zusammen in 400 ccm dest. Wasser 45 Min. gerührt. Anschließend wird 15proz. H_2O_2 -Lösung zugetropft, bis die Tüpfelreaktion auf SH-Gruppen¹⁵⁾ negativ ausfällt. Die Oxydation von gebildetem Cystein wird nach jeweils 30 Min. solange wiederholt, bis die SH-Probe noch 10 Min. nach der letzten Zugabe von H_2O_2 negativ bleibt. Anderntags wird am Rotationsvakuumverdampfer unter gleichzeitigem Ansäuern mit verd. Essigsäure eingengt. Kristalline Substanz fällt dabei aus und muß mehrfach abgesaugt werden. Man löst das Reaktionsprodukt heiß in dest. Wasser (etwa 8–10 ccm auf 1 g Säure), klärt mit Carboraffin und läßt kristallisieren. Ausb. 54 g (40%). Zers.-P. $211-214^\circ$. $[\alpha]_{589}^{23}$: -89.7° ($c = 1$; 2proz. Salzsäure); $[\alpha]_{589}^{23}$: -89.4° ($c = 1$; Wasser); $[\alpha]_{589}^{23}$: -84.8° ($c = 1$; 2n HCl).

Die physikalischen Daten bestätigen die Werte von *Schöberl* und *Hamm*³⁾. Die Angaben von *Behringer* und *Zillikens*¹⁶⁾, die einen Wassergehalt von 3 Mol fanden, konnten schon früher⁵⁾ auf eine Racemisierung des Cystins zurückgeführt werden.

10) *M. Brenner* und *W. Huber*, Helv. chim. Acta **36**, 1109 (1953).

11) *E. Taschner*, *A. Chimiak*, *B. Bator* und *T. Sokolowska*, Liebigs Ann. Chem. **646**, 134 (1961).

12) *R.-W. Roeske*, Chem. and Ind. **1959**, 1121.

13) *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 123; **1956**, 869; *K. H. Szekiela*, Chem. Labor. Betrieb **12**, 401 (1961).

14) Das L(-)-Cystin war eine Stiftung der Fa. Pharmazell, Aschaffenburg Zellstoffwerke, Pharmaz. Abtlg. Raubling/Obb., wofür hier gedankt sei. Die Reinigung wurde nach *M. S. Dunn* und *L. B. Rockland*, Advances Protein Chem., Bd. III, S. 295, Academic Press Inc., New York 1947, vorgenommen.

15) Vgl. die Angaben unter 1.c.³⁾

16) *H. Behringer* und *P. Zillikens*, Liebigs Ann. Chem. **574**, 140 (1951).

L-2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4) (2): Umkristallisation des *Monohydrates* aus Äthanol/Wasser (2:1) ergibt die kristallwasserfreie Verbindung. Zers.-P. 211–216°. $[\alpha]_{589}^{22}$: -99.3° ($c = 1$; Wasser); $[\alpha]_{589}^{22}$: -93.7° ($c = 1$; 2*n* HCl).

$C_4H_6N_2O_2S$ (146.2) Ber. C 32.87 H 4.14 S 21.94 Gef. C 32.97 H 4.24 S 21.84

Hydrochlorid von 2: 1.0 g **2** oder das *Monohydrat* wird in 10 ccm Wasser gelöst und mit überschüss. konz. *Salzsäure* versetzt. Die klare Lösung wird im Exsikkator über KOH und P_2O_5 getrocknet. Ausb. 1.2 g (96%). Zers.-P. 189°. $[\alpha]_{589}^{26.3}$: -74.9° ($c = 0.992$; Wasser).

$C_4H_7N_2O_2S]Cl$ (182.6) Ber. Cl 19.41 Gef. Cl 19.48

L-2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4)-methylester-hydrochlorid: Zu 30 ccm absol. *Methanol* wird unter Rühren bei etwa -20° unter Feuchtigkeitsausschluß 7.9 ccm (0.11 Mol) über Bienenwachs gereinigtes *Thionylchlorid* während 15 Min. zugetropft. Nach 15 Min. weiterem Rühren werden 14.6 g **2** binnen 30 Min. bei fortgesetzter Kühlung eingetragen. Man rührt nochmals 30 Min., hebt den Kolben aus dem Kältebad, läßt langsam erwärmen und senkt anschließend in ein Wasserbad von 40° . Die nach etwa 2 Stdn. erhaltene klare Lösung bringt man am Rotationsvakuumverdampfer zur Trockne und kristallisiert das Rohprodukt aus Methanol/Äther um. Ausb. 17.3 g (89%). Schmp. 153.5° . $[\alpha]_{589}^{22}$: -74.5° ($c = 1$; Methanol).

$C_5H_9N_2O_2S]Cl$ (196.6) Ber. C 30.54 H 4.61 Cl 18.03 S 16.31

Gef. C 30.72 H 4.69 Cl 18.14 S 16.35

L-2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4)-äthylester-hydrochlorid erhält man analog mit Äthanol. Das ölige Rohprodukt wird i. Feinvak. über NaOH von Chlorwasserstoffresten befreit und aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Ausb. 14.2 g (68%). Schmp. 119° . $[\alpha]_{589}^{22.5}$: -73.8° ($c = 1$; Äthanol).

$C_6H_{11}N_2O_2S]Cl$ (210.7) Ber. C 34.21 H 5.26 Cl 16.82 S 15.22

Gef. C 34.30 H 5.28 Cl 16.72 S 15.23

L-2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4)-tert.-butylester-hydrochlorid

a) 730 mg **2**, 60 ccm *tert.-Butylacetat* und 4.4 mMol *Perchlorsäure* als 60proz. wäbr. Lösung werden 2 Tage geschüttelt. Das Reaktionsgemisch wird auf 0° abgekühlt und 4mal mit 10 ccm eiskalter 0.5*n* HCl extrahiert. Die wäbr. Extrakte neutralisiert man sofort mit $NaHCO_3$ und nimmt das Reaktionsprodukt in Äther auf. Die eingeeengte Ätherphase wird mit der gleichen Menge HCl-gesätt. Äther versetzt und das ausfallende Produkt mit Äther gewaschen. Ausb. 28 mg. Schmp. 161° .

b) In einer Druckflasche werden 7.3 g **2** mit 75 ccm Dioxan versetzt. Im Tiefgefrierfach kühlt man die Mischung ab und fügt 12 ccm *Isobutylen* zu. Die verschlossene Flasche wird 15 Stdn. bei Raumtemperatur geschüttelt. Man erhält eine klare Lösung, die zur Druckminderung wieder im Eisschrank abgekühlt wird. In 200 ccm dest. Wasser löst man 22.5 g Natriumhydroxid, setzt 250 g gestoßenes Eis zu, gießt die kalte Reaktionsmischung dazu und extrahiert die ausgeschiedene Substanz mit Äther. Die Ätherphase wird mit Natriumsulfat getrocknet, auf etwa 150 ccm eingeeengt und mit HCl-gesätt. absol. Äther versetzt. Die ausgeschiedene Substanz wird abgesaugt, mit Äther gewaschen und über P_2O_5 i. Vak. getrocknet. Ausb. 3.1 g (26%). Schmp. $159-161^\circ$. $[\alpha]_{589}^{25}$: -51.3° ($c = 1$; Wasser).

$C_8H_{15}N_2O_2S]Cl$ (238.7) Ber. C 40.24 H 6.33 Cl 14.85 S 13.43

Gef. (a) C — H — Cl — S 13.36

Gef. (b) C 40.33 H 6.36 Cl 14.93 S 13.46