

**28. Recherches sur la formation et la transformation  
des esters LXXIX [1]**

**Sur la réaction de l'isothiocyanate d'*o*-méthoxycarbonyl-phényle  
avec divers acides et l'acide sérinephosphorique**

par **Emile Cherbuliez, O. Espejo, B. Willhalm<sup>1)</sup>** et **J. Rabinowitz<sup>2)</sup>**

Laboratoire de chimie organique de l'Université de Genève et  
Exobiology Division, NASA Ames Research Center, Moffett Field, California 94035

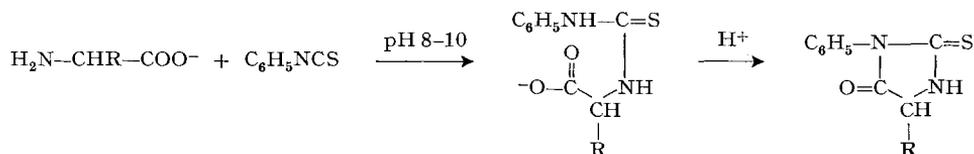
(1 XI 67)

*Summary.* Amino acids devoid of «leaving groups» on their  $\beta$  carbon atom (neither  $-\text{OH}$ : serine, nor  $-\text{SH}$ : cysteine) react with *o*-methoxycarbonyl-phenyl isothiocyanate (I) in the presence of one equivalent of NaOH, in water-dioxane or in ethanol, to yield the corresponding hydroquinazolinone derivatives II which were isolated as free acids.

When treated with  $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{conc. HCl}$  the hydroquinazolinone resulting from the reaction of L-serine with I undergoes a nucleophilic attack of the carbon bearing the leaving group  $-\text{OH}$  by a lone pair of electrons of S; this attack produces the formation of an additional thiazolidine ring, yielding the thiazoloquinazolinone derivative  $(-)\text{-III}$ . In an analogous reaction DL-serine phosphoric acid treated with I at pH 8–9 yields the corresponding substituted hydroquinazolinone which, boiled in 1N hydrochloric acid, undergoes ring closure to  $(\pm)\text{-III}$  by the same mechanism as the serine derivative (leaving group:  $-\text{OPO}_3\text{H}_2$ ).

L-Cysteine reacted with 2 equiv. of I and then treated with  $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{conc. HCl}$  gives two products:  $(-)\text{-III}$  produced by the same mechanism as for serine (leaving group:  $-\text{SH}$ ), and the quinazolinone derivative IV where the  $-\text{SH}$  group is also thiocarbamylated.

La réaction d'EDMAN [2] consiste à faire réagir un isothiocyanate, notamment l'isothiocyanate de phényle, avec un acide  $\alpha$ -aminé, ce qui conduit d'abord à la formation, en milieu faiblement alcalin (pH 8–10), du dérivé N-thiocarbamylé correspondant; traité ensuite en milieu acide, ce dernier fournit par cyclisation une thiohydantoïne caractéristique de l'acide aminé de départ:



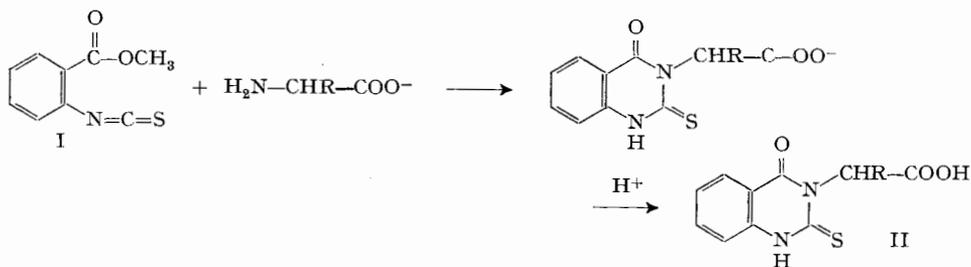
Appliquée à un polypeptide, cette réaction permet de détacher l'acide aminé N-terminal sous forme d'une phénylthiohydantoïne substituée et d'étudier ainsi la séquence du polypeptide en question.

Par contre, en faisant réagir un acide  $\alpha$ -aminé avec l'isothiocyanate d'*o*-méthoxycarbonyl-phényle (I), on observe une réaction fort différente: il y a bien cyclisation de la thio-urée formée d'abord, mais cette cyclisation se fait avec participation du groupe  $\text{COOCH}_3$  porté par le noyau aromatique, la fonction carboxylate du reste

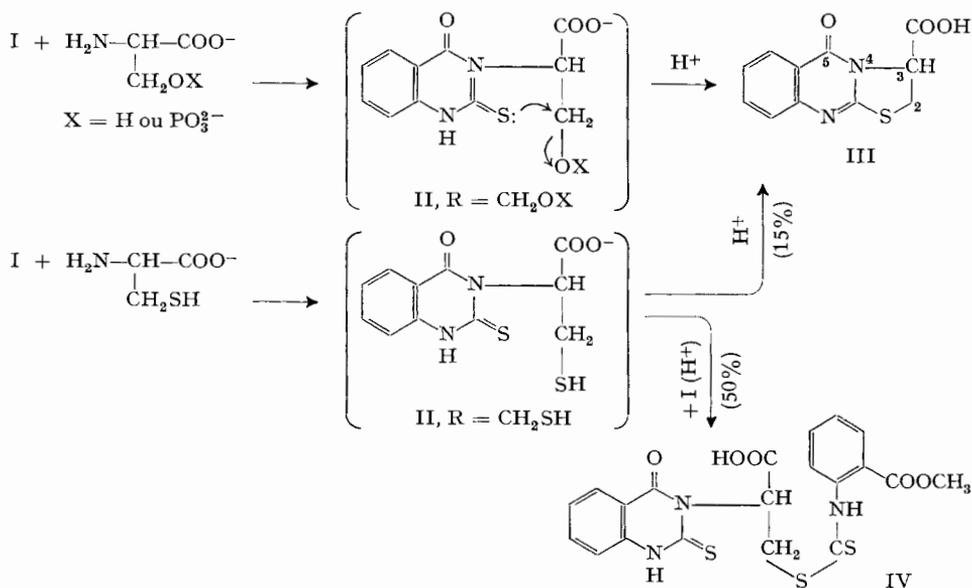
<sup>1)</sup> Adresse: FIRMENICH & CIE, 1211 Genève 4.

<sup>2)</sup> Adresse actuelle: Chemical Evolution Branch, Ames Research Center, National Aeronautics and Space Administration, Moffett Field, California 94035.

d'acide aminé étant maintenue comme telle, et on obtient le dérivé tétrahydroquinazolinique II:



Lorsque le radical R de l'acide aminé est constitué par un reste  $\text{CH}_2$  portant un groupe partant tel que OH (sérine),  $-\text{OPO}_3\text{H}_2$  (acide sérine-phosphorique) ou SH (cystéine), il se produit facilement une nouvelle cyclisation (probablement par attaque nucléophile d'un doublet libre du S thiocarbamique sur le C porteur du groupe partant), et l'on obtient dans les trois cas cités le même produit tricyclique, à savoir la carboxy-3-oxo-5-tétrahydro-2,3,4,5-thiazolo[2,3-b]quinazoline (III):



La structure de ce composé a été établie par l'analyse centésimale et divers spectres (IR., UV. et de RMN.).

Toutefois, dans nos conditions de travail, la cystéine (2me ligne du schéma ci-dessus) ne fournit le dérivé III qu'avec un faible rendement (15% environ) parce que le produit intermédiaire II,  $\text{R} = \text{CH}_2\text{SH}$ , (non isolé) est en majeure partie thiocarbamylé sur le soufre, avec production de IV, au lieu d'être cyclisé.

En partant de la L-sérine, on obtient la carboxy-oxo-tétrahydro-thiazoloquinazoline III sous une forme optiquement active, le C dissymétrique de la L-sérine, qui devient C-3 de III, conservant sa chiralité (le problème de la chiralité de N-4 n'a pas été

examiné); en partant de l'acide DL-sérine-phosphorique, on obtient la forme racémique de III.

En procédant avec la thréonine dans les mêmes conditions qu'avec la sérine, on obtient avec un rendement de plus de 60% le dérivé quinazolinique correspondant à fonction OH libre, II avec  $R = -CH(OH)-CH_3$ . Vu le caractère secondaire de la fonction hydroxyle de ce corps, sa cyclisation en dérivé thiazoloquinazolinique doit être moins aisée; cette réaction sera examinée d'une façon plus approfondie dans un prochain mémoire.

### Partie expérimentale

1. *Généralités.* Produits de départ: les acides  $\alpha$ -aminés et l'acide sérine-phosphorique mis en œuvre ont été obtenus dans le commerce. L'isothiocyanate d'*o*-méthoxycarbonyl-phényle (I) a été préparé selon HOWARD & KLEIN [3] à partir d'une suspension de chlorhydrate d'antranilate de méthyle dans  $H_2O$ , d'une suspension de  $CaCO_3$  dans du chlorure de méthylène +  $H_2O$ , et de thio-phosgène. – Pour les spectres de RMN., IR. et UV., seuls les signaux et bandes principaux sont indiqués.

2. *Réaction de I avec des acides aminés  $H_2N-CHR-COOH$  ne possédant ni  $-OH$  ni  $-SH$ .* Dans un ballon tricol avec réfrigérant, ampoule à robinet et agitateur mécanique, on introduit 0,01 mole d'acide aminé dans 40 à 60 ml d'un mélange dioxanne-eau ou d'éthanol et ajoute NaOH 1N de manière à obtenir un pH d'environ 8–9. On plonge le ballon dans un bain de température appropriée (0 à 50°; v. tabl. 1) et introduit petit à petit, sous bonne agitation, une solution de 1,93 g (0,01 mole) d'isothiocyanate I dans 20 ml de dioxanne ou d'éthanol, tout en maintenant le pH entre 8 et 9 par addition de NaOH 1N jusqu'à concurrence de 10 ml au total. Par titrage au formol de prises, on vérifie la disparition progressive du groupe  $-NH_2$ , achevée au bout de 15 à 45 min, et continue ensuite l'agitation à la température appropriée pendant 2 à 4 h. On évapore le contenu du ballon à sec sous vide, reprend le résidu dans un minimum d'eau et précipite les hydroquinazolines II par acidulation avec HCl env. 3N. Le précipité est filtré et cristallisé dans un solvant approprié (v. tab. 1). On obtient ainsi les dérivés II purs avec des rendements de 70 à 93%. Dans le cas du chlorhydrate de glycinate d'éthyle, on commence par ajouter 10 ml de NaOH 1N pour libérer la fonction  $-NH_2$ ; à la fin de la thiocarbamylation, on précipite le dérivé II par addition d'eau au mélange réactionnel.

La proline, avec sa fonction amino secondaire, ne fournit que la thio-urée: N-(*o*-méthoxycarbonyl-phényl-thiocarbonyl)-proline, qui ne peut être cyclisée en tétrahydroquinazolinone.

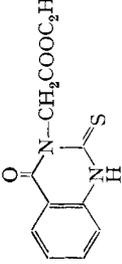
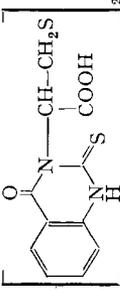
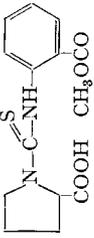
Les produits obtenus et les rendements figurent dans le tableau 1. Les résultats analytiques sont consignés dans le tableau 2, et les données spectroscopiques (RMN., IR. et UV.) de quelques-uns de ces produits, dans le tableau 3.

3. *Réaction de I avec la sérine et l'acide sérine-phosphorique.* – 3.1. *Avec la L-sérine*  $\rightarrow$  (–)-III. On dissout 0,52 g (0,005 mole) de L-sérine dans une solution alcoolique de 0,20 g (0,005 mole) de NaOH. On plonge le ballon dans un bain de glace et introduit petit à petit, sous bonne agitation, une solution de 0,965 g (0,005 mole) d'isothiocyanate I dans 10 ml d'éthanol. Cette addition terminée, on continue l'agitation 8 h à la température ambiante, puis évapore le contenu du ballon à sec sous vide. Le résidu est dissous dans l'acide acétique glacial, et la solution acétique, additionnée de HCl conc. jusqu'à formation d'un trouble persistant (il y faut env. un dixième du volume du  $CH_3COOH$  employé). Après une nuit de repos à 4°, on filtre le précipité cristallin de (–)-*carboxy-3-oxo-5-tétrahydro-2,3,4,5-thiazolo[2,3-b]quinazoline* ((–)-III), qu'on lave à l'eau froide jusqu'à élimination de toute trace de HCl et sèche sous vide sur  $P_2O_5$ . Par dissolution dans un grand volume d'éthanol chaud et concentration à petit volume on obtient 0,846 g (63%) de (–)-III pur, F. 249–251°.  $[\alpha]_D^{25} = -298 \pm 10^\circ$  ( $c = 1$ , éthanol, tube de 1 dm). Spectres de RMN., IR. et UV. v. tabl. 3.

$C_{11}H_8N_2O_3S$	Calc.	C 53,2	H 3,22	N 11,3	S 12,9%	P.M. 248
	Tr.	53,3	3,18	11,4	12,4%	250 <sup>3)</sup>

3.2. *Avec l'acide ( $\pm$ )-sérine-phosphorique*  $\rightarrow$  ( $\pm$ )-III. Dans une solution de 7,4 g (0,04 mole) d'acide sérine-phosphorique dans le minimum d'eau, placée dans un ballon plongeant dans un bain de glace, on ajoute NaOH 2N jusqu'à pH 8–9, puis 50 à 100 ml de dioxanne et, petit à petit, sous bonne agitation une solution de 7,7 g (0,04 mole) d'isothiocyanate I dans 50 ml de dioxanne. Cette dernière addition terminée, on maintient l'agitation à froid pendant 20 h. Le précipité formé est

Tableau 1. *Acides thiono-2-tétrahydro-1,2,3,4-quinazolinone-4-(alcoyl-1-carboxyliques)-3 (II) et dérivés obtenus par réaction entre isothiocyanate d'o-méthoxycarboxyl-phényle (I) et divers acides aminés*

Acide aminé	g	(mole)	Isothio- cyanate I g	(mole)	NaOH 1N ml	Milieu	Temp. et durée de réaction °C h	Produit obtenu	F.		Solvant de cristal- lisation
									°C	g rdt %	
Glycine	0,75 (0,01)	1,93 (0,01)	10	eau- dioxanne	20	1	R = H	273-274	2,2 93	ac. acétique	
Alanine	0,89 (0,01)	1,93 (0,01)	10	eau- dioxanne	20	2	R = CH <sub>3</sub>	114-115	2,3 92	ac. acétique + H <sub>2</sub> O	
Phénylalanine	1,65 (0,01)	1,93 (0,01)	10	eau- dioxanne	50	2	R = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	239-241	2,3 70	acétone	
Leucine	0,66 (0,005)	0,97 (0,005)	5	eau- dioxanne	50	2	R = (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub>	183-184	1,1 72	ac. acétique + H <sub>2</sub> O	
Méthionine	0,57 (0,004)	0,80 (0,004)	4	eau- dioxanne	50	2	R = CH <sub>3</sub> SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	159-161	0,9 80	acétone + H <sub>2</sub> O	
Glycinate d'éthyle, HCl	1,43 (0,01)	1,93 (0,01)	10	eau- dioxanne	50	2		213-215	1,9 70	éthanol	
Cystine	1,20 (0,005)	1,93 (0,01)	10	éthanol	0	4		150a)	2,2 79	ac. acétique + H <sub>2</sub> O	
L-Proline	0,58 (0,005)	0,97 (0,005)	5	eau- dioxanne	50	2		150-151	1,1 78	acétone	

a) Avec décomposition

Tableau 2. *Analyses des dérivés du tableau 1*

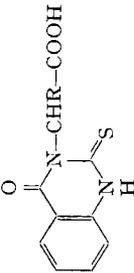
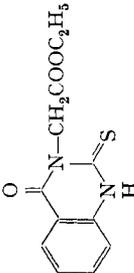
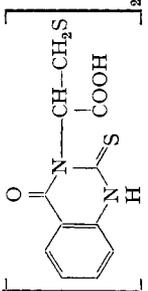
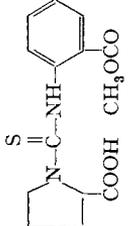
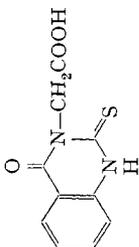
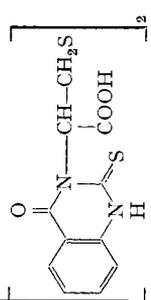
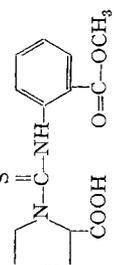
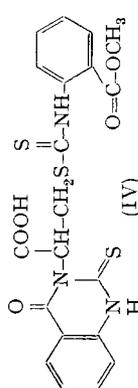
Formule brute	Analyses						S <sub>tr.</sub> %
	PM <sub>calc.</sub>	PM <sub>tr.</sub> <sup>3)</sup>	C <sub>tr.</sub> %	H <sub>tr.</sub> %	N <sub>tr.</sub> %	S <sub>calc.</sub> %	
							
R = H	236	234	50,9	3,39	11,9	13,6	13,5
R = CH <sub>3</sub>	250	255			11,2	12,8	12,7
R = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	324	308			8,6	9,8	10,0
R = (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub>	292		57,1	5,53	9,1	10,3	9,9
R = CH <sub>2</sub> SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	310				9,0	20,6	19,9
							
	264		54,6	4,55	10,6	12,1	12,5
							
	562		47,0	3,24	10,0	22,8	21,9
							
	308		54,7	5,20	9,1	10,4	10,4

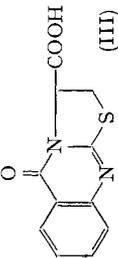
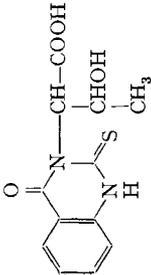
Tableau 3. Spectres de RMN., IR. et UV. de quelques substances du tableau 1, de III et IV  
Spectres de RMN. dans  $(CD_3)_2SO$  avec le tétraméthylsilane comme référence interne,  $\delta$  en ppm, J en cps, s = singlet, d = doublet, m = multiplet

Substance	RMN.		IR. (dans KBr)		UV. (dans alcool) $\lambda_{max}$ nm
	H aromatiques nbre $\delta$	COOH NH $\delta$	C=O (COOH) cm <sup>-1</sup>	C=O (COOCH <sub>3</sub> ) cm <sup>-1</sup>	
	4	12,95 s	1720	1660	1618
					
	4	10,0 s	1722	1685	1610
	8	11,70 s 12,90 s	1718 <sup>b)</sup>	1670 <sup>b)</sup>	1618

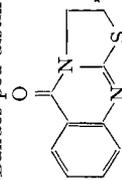
OCH<sub>3</sub>: 3,92 s;  
C-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S-C: 2,28 m;  
CH<sub>2</sub>N: 3,75 m;  
CH-COOH: 5,15 s<sup>a)</sup>

CH<sub>2</sub>S: 4,20 m;  
COOCH<sub>3</sub>: 3,92 s;  
CH-COOH: 6,7 s<sup>a)</sup>

Tableau 3. (Suite et fin)

Substance	RMN.		IR. (dans KBr)		UV. (dans alcool)
	H aromatiques nombre $\delta$	COOH NH $\delta$	C=O (COOH)	C=O (CON $\langle$ ) (COOCH $_3$ )	
 (III)	4	7,22 à 8,13 m 10,75 s	1720	1675	203,0; 234,4 274,0; 313,3 <sup>e</sup> )
	4	7,22 à 8,03 m	1720	1675	204,4; 220,0; 294,4 <sup>e</sup> )

a) s élargi  
b) Bandes peu distinctes



c) thronine est compatible avec une structure quinazolinique de type II. Le spectre UV. du dérivé de la

alors filtré, lavé au dioxanne et séché sous vide sur  $P_2O_5$ : 15 g (69%) de sel trisodique de l'acide thiono-2-tétrahydro-1,2,3,4-quinazolinone-4-(carboxy-1-éthyl-phosphorique-2)-3 (sel trisodique de II avec  $R = -CH_2-OPO_3H_2$ ).

$C_{11}H_8N_2Na_3O_7PS, 8H_2O$	Calc. C 24,2	H 4,43	N 5,2	S 5,9	P 5,7%
(546)	Tr. „ 24,3	„ 4,13	„ 5,4	„ 6,5	„ 5,9%

Pour la cyclisation de cet acide, on chauffe 4,0 g du sel trisodique avec 50 ml de HCl 1N 1 h à reflux. Après refroidissement, le précipité formé est filtré, lavé avec de l'eau froide et séché sous vide sur  $P_2O_5$ . Par dissolution de ce produit dans un grand volume d'éthanol à chaud et concentration de la solution à un petit volume, on obtient 1,0 g de ( $\pm$ )-carboxy-3-oxo-5-tétrahydro-2,3,4,5-thiazolo[2,3-b]quinazoline (( $\pm$ )-III), F. 275–277°.  $[\alpha]_D^{25} = 0^\circ$ . Spectres de RMN., IR. et UV. identiques à ceux de (-)-III décrit sous 3.1.

$C_{11}H_8N_2O_3S$	Calc. C 53,2	H 3,22	N 11,3	S 12,9%	P.M. 248
	Tr. „ 53,4	„ 3,40	„ 11,3	„ 12,8%	„ 244 <sup>3)</sup>

4. Réaction de I avec la L-cystéine  $\rightarrow$  (-)-III et IV. On dissout 0,785 g (0,005 mole) de chlorhydrate de L-cystéine dans 10 ml d'éthanol absolu et ajoute successivement 10 ml de KOH 1N dans l'éthanol absolu (précipité) et env. 40 ml de pyridine (dissolution partielle du précipité). Le ballon étant plongé dans un bain de glace, on introduit petit à petit, sous bonne agitation, une solution de 1,93 g (0,01 mole) d'isothiocyanate I dans 10 ml d'éthanol. L'addition terminée, on continue l'agitation 6 h dans le bain de glace pour évaporer ensuite le contenu du ballon à sec sous vide. On dissout le résidu dans  $CH_3COOH$  glacial et ajoute HCl conc. jusqu'à trouble persistant. Après repos d'une nuit à 4°, on filtre le précipité formé. Ce dernier est recristallisé dans l'acétone (une petite quantité d'un produit A, insoluble dans l'acétone, est mis de côté; v. plus loin): 1,17 g (50%) de IV: dérivé S-(o-méthoxycarbonylphényl-thiocarbamylé) de II,  $R = -CH_2-SH$ . F. 142–144°. Spectres de RMN. et IR. v. tabl. 3.

$C_{20}H_{17}N_3O_3S$	Calc. C 50,5	H 3,58	N 8,9	S 20,2%
	Tr. „ 49,5	„ 4,20	„ 9,1	„ 19,9%

Le filtrat acético-chlorhydrique précédent est additionné d'eau ce qui provoque la formation d'un précipité blanc, insoluble dans l'acétone et qui est identique (F. du mélange) au produit A. Les deux fractions réunies recristallisées dans l'alcool, fournissent 1,84 g de (-)-III, F. 249–250°, identique (F. du mélange: 250–251°) au produit obtenu à partir de la L-sérine et décrit sous 3.1.

5. Réaction de I avec la thréonine  $\rightarrow$  II,  $R = -CH(OH)-CH_3$ . En procédant comme sous 3.1. mais à partir de 0,595 g (0,005 mole) de thréonine, on obtient 0,860 g (63%) de dérivé quinazolique II ( $R = -CH(OH)-CH_3$ ), qu'on recristallise dans l'alcool. Une variante pour l'isolement du produit de réaction consiste à aciduler le mélange de thiocarbamylation, par HCl env. 3N, à évaporer le tout à sec sous vide et à reprendre le résidu dans de l'acétone anhydre. On élimine les sels insolubles par filtration et concentre le filtrat à petit volume sous vide. Après addition d'eau jusqu'à trouble persistant et repos d'une nuit à 4°, on recueille les cristaux de II ( $R = -CH(OH)-CH_3$ ), qu'on recristallise dans un grand volume d'éthanol. F. 214–215°. Données spectroscopiques (RMN., IR. et UV.) v. tabl. 3.

$C_{12}H_{12}N_2O_4S$	Calc. C 51,4	H 4,32	N 10,0	S 11,4%	P.M. 280
	Tr. „ 51,3	„ 4,32	„ 10,0	„ 11,7%	„ 266 <sup>3)</sup>

Les auteurs remercient sincèrement la CIBA SOCIÉTÉ ANONYME à Bâle, de l'aide accordée pour ce travail. Ils sont redevables de la plupart des spectres de RMN., IR. et UV. à la Maison FIRMENICH & CIE à Genève. – L'un de nous (J.R.) tient à remercier la NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES – NATIONAL RESEARCH COUNCIL et la NATIONAL AERONAUTICS AND SPACE ADMINISTRATION, Washington, D.C., de lui avoir accordé un Senior Postdoctoral Research Associateship, ainsi que le Dr C. PONNAPERUMA, Chief, CHEMICAL EVOLUTION BRANCH, AMES RESEARCH CENTER, des facilités accordées pour compléter ces travaux.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] LXXVIII<sup>e</sup> Communication: Helv. 50, 2563 (1967).
- [2] G. EDMAN, Acta chem. scand. 4, 283 (1950).
- [3] J. C. HOWARD & G. KLEIN, J. org. Chemistry 27, 3701 (1962).
- [4] E. CHERBULIEZ, B. WILLHALM, O. ESPEJO, S. JACCARD & J. RABINOWITZ, Helv. 50, 1440 (1967).

<sup>3)</sup> Déterminé par dosage acidimétrique.