

14. Richard Kuhn und Ingrid Hammer: Umsetzungsprodukte von Chinonen und anderen Carbonylverbindungen mit Cystein

[Aus dem Max Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg,
Institut für Chemie]

(Eingegangen am 31. Juli 1950)

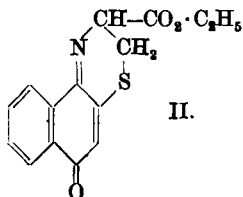
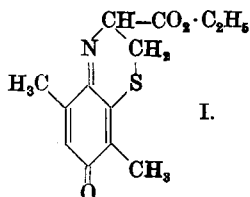
Es werden 3 Reaktions-Typen bei der Umsetzung von Chinonen und anderen Carbonylverbindungen mit Cystein festgestellt: 1.) Addition der SH-Gruppen (von Dehydrierung und Ringschluß begleitet), 2.) Dehydrierung zu Cystin, 3.) Mercaptal-Bildung.

I.) Chinone

So wie Chinon¹⁾ reagieren auch Toluchinon, *p*-Xylochinon und α -Naphthochinon mit Cysteinäthylester-hydrochlorid in wäßriger bzw. alkoholischer Lösung unter Bildung ockergelber, kristalliner Niederschläge. Nach ihrer Zusammensetzung entstehen diese Verbindungen aus 1 Mol. Chinon + 1 Mol. Cysteinester – 2 H-Atome – 1 H₂O. Die Dehydrierung wird durch ein zweites Mol. des angewandten Chinons besorgt, das man in Form des Hydrochinons wiederfindet. Demgemäß werden die besten Ausbeuten bei Anwendung von 2 Mol. Chinon auf 1 Mol. Cysteinester erhalten:

Angewandtes Chinon	Kondensationsprodukt	Zersp.	Ausbeute
<i>p</i> -Benzochinon	C ₁₁ H ₁₁ O ₃ NS	300°	33 % d.Th.
Toluchinon	C ₁₂ H ₁₃ O ₃ NS	208–210°	30 % „
<i>p</i> -Xylochinon	C ₁₃ H ₁₅ O ₃ NS (I)	209–211°	20 % „
α -Naphthochinon	C ₁₅ H ₁₃ O ₃ NS (II)	238–239°	17 % „

Legt man die früher¹⁾ vorgeschlagene Formulierung zugrunde, so ergeben sich für das Kondensationsprodukt aus Toluchinon zwei verschiedene Möglichkeiten der Konstitution, je nachdem ob die der Methylgruppe benachbarte oder die entfernte Carbonylgruppe in Reaktion tritt. Bei den aus *p*-Xylochinon und aus α -Naphthochinon erhaltenen Kondensationsprodukten (I bzw. II) fällt eine entsprechende Isomeriemöglichkeit fort.



β -Naphthochinon und Anthrachinon setzten sich unter den eingehaltenen Bedingungen mit Cysteinäthylester-hydrochlorid nicht um; *amphi*-Naphthochinon²⁾ erwies sich als zu zersetzlich.

¹⁾ R. Kuhn u. H. Beinert, B. 77–79, 606 [1944–46].

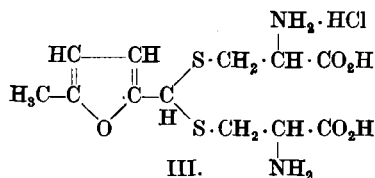
²⁾ R. Willstätter u. J. Parnas, B. 40, 1406 [1907]; R. Kuhn u. I. Hammer, B. 83, 413 [1950].

Bei der Kondensation von 2-Methyl- α -naphthochinon mit Homocystein erhielten L. F. Fieser und B. Turner³⁾ unter Addition und Dehydrierung — aber ohne anschließende Abspaltung von Wasser — orangefarbene Blättchen. Hier kann sich kein Thiazinring bilden und die Bildung eines 7-gliedrigen Ringsystems bleibt aus.

II.) α,β -ungesättigte Carbonylverbindungen

Die Gruppierung $-\text{CH}:\text{CH}\cdot\text{CO}-$, welche im *p*-Benzochinon 2mal vorkommt, kann mit den SH-Gruppen des Cysteins bzw. Cysteinäthylesters nicht in allen Fällen unter physiologisch interessierenden Bedingungen zur Reaktion gebracht werden. Cumarin, das uns im Hinblick auf seine Wirkung als Blastokolin⁴⁾ interessierte, widersetzte sich auch unter energischen Bedingungen der Kondensation. Die einfachste α,β -ungesättigte Carbonylverbindung, das Acrolein, reagiert mit Cystein-hydrochlorid in Alkohol leicht unter Erwärmung. Die chemische Natur des anscheinend höhermolekularen, kristallinen Reaktionsproduktes ist noch ungeklärt.

5-Methyl-furfurol reagiert mit Cystein-hydrochlorid unter Bildung des Hydrochlorids eines Mercaptals $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}_2\cdot\text{HCl}$ (III) vom Schmp. 173°. Die entsprechende Verbindung aus 5-Oxymethyl-furfurol wird ebenfalls als Hydro-



chlorid erhalten. Die Aldehyde der Furanreihe verhalten sich somit ungeachtet des Diensystems, das sie enthalten, wie gesättigte Aldehyde, wie z. B. Formaldehyd, Acetaldehyd, Propionaldehyd und Benzaldehyd, die mit Cystein bei Gegenwart starker Säure nach M. D. Armstrong und V. du Vigneaud⁵⁾ Mercaptale liefern.

III.) Alloxan und Ninhydrin

R. S. Leech und C. C. Bailey⁶⁾ stellten beim Kaninchen eine sehr rasche Reaktion zwischen Alloxan und SH-Glutathion fest; beide verschwanden gleichzeitig aus dem Blut. A. Lazarow⁷⁾ konnte den Alloxandibetes bei Ratten durch intravenöse Zufuhr von 2500 mg pro kg Glutathion oder von 912 mg pro kg Cystein, 1–2 Min. vor der Alloxan-Injektion, verhindern; 3 Min. nach der Alloxangabe war keine Schutzwirkung der SH-Körper festzustellen. Spektroskopische Messungen im UV von A. Lazarow, J. W. Patterson und St

³⁾ Journ. Amer. chem. Soc. **69**, 2335 [1947].

⁴⁾ R. Kuhn, D. Jerchel, F. Moewus, E. F. Möller u. H. Lettré, Naturwiss. **31**, 468 [1943]. ⁵⁾ Journ. biol. Chem. **168**, 373 [1947], **173**, 749 [1948].

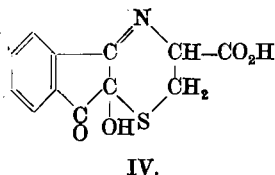
⁶⁾ Journ. biol. Chem. **157**, 525 [1945].

⁷⁾ Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **61**, 441 [1946]; zit. nach F. D. W. Lukens, Physiol. Rev. **28**, 304 [1948].

Levy⁸⁾ zeigten, daß sich beim Umsatz von Alloxan mit Cystein Dialursäure bildet, während der Umsatz mit Glutathion zu einem andersartigen Produkt führt. R. Labes und H. Freisburger⁹⁾ hatten schon viele Jahre vor der Entdeckung des Alloxandiabetes (J. S. Dunn, 1943) das Auftreten von Murexid im Harn nach Verabreichung von Alloxan an Mäuse beobachtet und geringe Murexid-Bildung auch in vitro bei der Umsetzung von Cystein mit Alloxan in Gegenwart von Natriumacetat und Ammoniumchlorid gefunden.

Eigene präparative Versuche, in denen Alloxan (1 Mol) mit Cystein-hydrochlorid (2 Mol) in Wasser umgesetzt wurde, lieferten 0.65 Mol kristallisierte Dialursäure neben Cystin nach der Gleichung $>CO + 2 HS- \rightarrow >CHOH + -S \cdot S-$. Zusatz von Borsäure¹⁰⁾ erhöhte die Ausbeute an Dialursäure auf 0.88 Mol. Diese Versuche sind, um den physiologischen Bedingungen näher zu kommen, auch bei Gegenwart von Natriumacetat durchgeführt worden. Die Ausbeuten an Dialursäure waren dabei etwas geringer und es war kein Borsäure-Effekt festzustellen.

Wesentlich anders als Alloxan verhält sich Ninhydrin. Dieses liefert mit Cystein-hydrochlorid in wäßriger Lösung in sehr guter Ausbeute ein Kondensationsprodukt $C_{12}H_9O_4NS$ vom Schmp. 168–169° und $[\alpha]_D^{20}$: -151° (in Alkohol). Es handelt sich um eine Carbonsäure, die mit Diazomethan einen Methylester vom Schmp. 83° liefert, den man auch aus Ninhydrin und Cysteinmethylester-hydrochlorid erhält. Wahrscheinlich kommt es hier zur Bildung einer Thiazin-carbonsäure (IV), die 2 asymmetrische Kohlenstoffatome enthält. Das Ninhydrin erinnert somit in seinem Verhalten an die Chinone. Dort erscheint als einleitende Reaktion die Addition der SH-Gruppen an die C=C-Doppelbindung des Chinons unter Bildung eines Hydrochinon-thioäthers, hier die Addition an die sehr reaktionsfähige, mittelständige der 3 Ketogruppen.



Beschreibung der Versuche

Zu I: Umsetzungen von Cysteinäthylester-hydrochlorid mit

1.) Toluchinon: Zu einer siedenden Lösung von 0.6 g Toluchinon ($1/_{200}$ Mol) in 100 ccm Wasser wurde eine Lösung von 0.5 g Cysteinäthylester-hydrochlorid ($1/_{372}$ Mol) in 2 ccm Wasser gegeben. Es bildete sich sofort ein ockergelber Niederschlag von sternchenförmigen Kristallen unter Verschwinden des Chinongeruchs. Nach 6-stdg. Stehenlassen wurde zentrifugiert und mit Wasser gewaschen; Ausb. 0.2 g (30% d. Th.) einer Verbindung vom Schmp. 208–212°. Löslich in Alkohol, Aceton, Essigester, konz. Salzsäure und Natronlauge (unter Verseifung), unlöslich in Wasser und Benzol. Es wurde das beim Siedepunkt des Toluols getrocknete Rohprodukt analysiert.

$C_{12}H_{13}O_3NS$ (261.2) Ber. C 57.37 H 5.22 N 5.57 S 12.79
Gef. C 56.07 H 5.07 N 5.53 S 13.37.

2.) *p*-Xylochinon: Man versetzte eine siedende Lösung von 0.7 g *p*-Xylochinon ($1/_{300}$ Mol) in 150 ccm Wasser mit einer Lösung von 0.5 g Cysteinäthylester-hydrochlorid ($1/_{372}$ Mol) in 2 ccm Wasser. Die hellgelbe Lösung des Xylochinons färbte sich sofort

⁸⁾ Science **108**, 308 [1948]. ⁹⁾ Arch. exper. Pathol. (D) **156**, 226 [1930].

¹⁰⁾ Über den Einfluß von Borsäure auf den Alloxandiabetes vergl. R. Kuhn u. G. Quadbeck, Naturwiss. **35**, 318 [1948].

orange und später unter Trübung grüngelb. Der Chinongeruch verschwand; nach 2 Stdn. hatte sich eine ockergelbe Fällung abgesetzt und am Gefäßrand bildeten sich Kristalle von feinen, spießigen Nadeln. Die zentrifugierte Fällung wurde mit Wasser gewaschen; Ausb. 140 mg (20 % d.Th.) einer Verbindung vom Schmp. 209–211° (unter Dunkelfärbung). Löslich in Alkohol, Aceton und Natronlauge, unlöslich in Wasser, Natriumcarbonat-Lösung, Benzol und Essigester. Die Substanz wurde ohne weitere Reinigung analysiert, nachdem sie beim Siedepunkt des Xylols getrocknet war.

$C_{13}H_{15}O_5NS$ (265.2) Ber. C 58.82 H 5.70 N 5.28 S 12.09
Gef. C 59.00 H 5.48 N 5.28 S 12.91.

3.) α -Naphthochinon: Zu einer Lösung von 0.8 g Naphthochinon ($1/200$ Mol) in 50 ccm heißem Alkohol wurden 0.5 g Cysteinester-hydrochlorid, die in 10 ccm Alkohol gelöst waren, gegeben. Die blaugrüne Lösung färbte sich dunkelgrün. Sie wurde auf 15 ccm eingengt. Über Nacht bildete sich ein feinkristalliner, ockerfarbener Niederschlag; Ausb. 120 mg (17 % d.Th.). Löslich in Natronlauge, schwerlöslich in Alkohol, Aceton, Essigester, unlöslich in Wasser und Chloroform, Schmp. 238–239°.

$C_{16}H_{13}O_3NS$ (287.2) Ber. C 62.67 H 4.57 N 4.88 S 11.16
Gef. C 63.09 H 4.33 N 4.80 S 11.30.

Im Filtrat, das auf einige ccm eingengt wurde, bildete sich nach Zusatz von Wasser ein feinkristalliner, schwarzer Niederschlag (100 mg). Die Substanz schmolz bis 300° nicht. Sie ist löslich in Benzol, konz. Salzsäure, Wasser, Essigester, Chloroform und Äther.

Zu II: Umsetzungen von Cystein-hydrochlorid mit

1.) 5-Methyl-furfurol: Zu 0.5 g Methylfurfurol ($1/200$ Mol) wurde die Lösung von 1.6 g Cystein-hydrochlorid in 3 ccm Wasser gegeben. Die Lösung färbte sich orange und kristallisierte nach 5-stdg. Stehen. Aus dem Filtrat fiel auf Zusatz von Alkohol ein weiterer, sandfarbener Niederschlag. Gesamtausb. 0.9 g (50% d.Th.) einer Verbindung vom Schmp. 173° (Zers.). Sie wurde zum Chlornachweis mit konz. Salpetersäure gekocht und mit Silbernitrat eine positive Chlorid-Reaktion erzielt. Löslich in heißem Wasser, Natronlauge und Salzsäure, unlöslich in Alkohol, Essigester, Aceton, Benzol, Pyridin, Chloroform und Äther. Es wurde versucht, die Verbindung durch Lösen in Wasser und Ausfällen mit Alkohol zu reinigen; dabei wurde quantitativ Salzsäure abgespalten.

$C_{12}H_{16}O_5N_2S_2 \cdot HCl$ (370.1) Ber. C 38.91 H 5.17 N 7.57 S 17.32
Gef. C 38.90 H 5.02 N 7.21 S 16.74.

Optische Aktivität: $[\alpha]_D^{20} = -0.06^\circ \cdot 100/1 = -6.0^\circ$ (in n HCl).

Cystein zum Vergleich: $[\alpha]_D^{20} = +0.09^\circ \cdot 100/1.082 = +8.3^\circ$ (in n HCl).

Hemmwirkung im Kresstest: Methylfurfurol (Verdünnung 1:1000) = 95%;
Verbindung aus Methylfurfurol und Cystein-hydrochlorid (Verdünnung 1:10) = 0%.

Das Kondensationsprodukt aus Methylfurfurol und Cystein-hydrochlorid spaltet beim Umfällen Salzsäure ab. Die erhaltene Verbindung wurde in wenig Wasser gelöst und mit Alkohol versetzt. Durch Reiben mit dem Glasstab wurde Kristallisation erzielt; Schmp. 181° unter Rotbraunfärbung und Zersetzung. Der Chlornachweis fiel negativ aus.

$C_{12}H_{16}O_5N_2S_2$ (333.7) Ber. C 43.15 H 5.45 N 8.39 Gef. C 42.89 H 5.53 N 8.34.

2.) 5-Oxymethyl-furfurol: Man versetzte die Lösung von 1.6 g Cystein-hydrochlorid ($1/100$ Mol) in 2 ccm Wasser mit 0.6 g Oxymethylfurfurol. Nach einiger Zeit färbte sich die Lösung orange. Sie wurde i. Vak. eingengt und mit Alkohol versetzt. Es bildete sich ein sandfarbener Niederschlag; Ausb. 0.1 g. Löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol, Benzol, Chloroform und Essigester; Schmp. 145–150°.

$C_{12}H_{18}O_6N_2S_2 \cdot HCl$ (386.7) Ber. C 37.24 H 4.94 N 7.24 S 16.58
Gef. C 36.28 H 5.66 N 7.25 S 14.97.

Zu III: Umsetzung von Cystein-hydrochlorid mit

1.) Alloxantetrahydrat: Zu der Lösung von 0.8 g Alloxan ($1/268$ Mol) in 2 ccm Wasser fügte man eine Lösung von 1.6 g Cystein-hydrochlorid ($1/100$ Mol) in 4 ccm

Wasser und ließ den Ansatz längere Zeit stehen. Es bildeten sich Prismen, die aus Wasser umkristallisiert wurden und bei 215–220° unter Zersetzung und Rotfärbung schmolzen. Misch-Schmp. mit Dialursäure 215–220°; Ausb. 0.4 g (66% d.Th.). Die Hautprobe auf Alloxan fiel negativ aus.

$C_4H_4O_4N_2 + H_2O$ (162.1) Ber. C 29.62 H 3.73 N 17.29 Gef. C 29.71 H 3.49 N 16.94.

Im Filtrat fiel ein reinweißer, feinkristalliner Niederschlag von Cystin; er färbte sich im Schmelzpunktsröhrchen bei 230° braun und bei 250° schwarz.

$C_6H_{12}O_4N_2S_2$ (240.2) Ber. C 30.00 H 5.00 N 11.67 S 26.72

Gef. C 30.07 H 4.93 N 11.85 S 27.00.

Umsetzung von Alloxantetrahydrat mit Cystein-hydrochlorid bei Gegenwart von Borsäure: Es wurden 1 g Alloxantetrahydrat ($1/200$ Mol) mit einer Lösung von 0.6 g Borsäure in 6 ccm Wasser versetzt und dazu die Lösung von 1.6 g Cystein-hydrochlorid in 2 ccm Wasser gegeben. Über Nacht bildete sich ein kristalliner Niederschlag; Ausb. 0.7 g (88% d.Th.). Die Hautprobe auf Alloxan fiel negativ aus. Schmp. aus Wasser 215–220°, Misch-Schmp. mit Dialursäure 215–220°. Das Filtrat wurde etwas eingengt, beim Stehenlassen kristallisierte Cystin in weißen, kugelartigen Kristallen aus.

2.) Ninhydrin: Man versetzte die Lösung von 0.45 g Ninhydrin ($1/400$ Mol) in 10 ccm warmem Wasser mit 0.4 g Cystein-hydrochlorid ($1/400$ Mol), das in 4 ccm Wasser gelöst war. Die Lösung färbte sich blaßrosa und nach wenigen Sekunden konnte man eine Abscheidung bemerken. Der Ansatz wurde einige Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Zur Reinigung löste man die Substanz in Alkohol und fällte mit Wasser sternchenförmige Kristalle vom Schmp. 168–169° (Dunkelfärbung und Zersetzung); Ausb. an Rohprodukt 0.6 g (91% d.Th.). Die Verbindung ist löslich in Alkohol, Aceton, Essigester, Natronlauge und Natriumcarbonat-Lösung, unlöslich in Wasser und Benzol. Mit konz. Schwefelsäure erhält man eine hellbraune Färbung.

$C_{12}H_9O_4NS$ (263.1) Ber. C 54.73 H 3.45 N 5.32 S 12.16

Gef. C 54.84 H 3.56 N 4.98 S 12.57.

Optische Aktivität:

$[\alpha]_D^{20} : -1.33^\circ \cdot 100/0.88 = -151^\circ$ (in 94-proz. Alkohol).

Cystein-hydrochlorid zum Vergleich: $[\alpha]_D^{20} : +0.05^\circ \cdot 100/1.060 = +5^\circ$ (in 94-proz. Alkohol).

Umsatz von Ninhydrin mit Cysteinmethylester-hydrochlorid: Es wurden zu der Lösung von 0.4 g Ninhydrin ($1/400$ Mol) in 10 ccm Wasser 0.4 g Cysteinmethylester-hydrochlorid ($1/400$ Mol), welches in 2 ccm Wasser gelöst war, gegeben. Die Lösung färbte sich blaßgrün. Nach einigen Stunden schied sich eine sirupartige Masse ab, die beim Reiben mit dem Glasstab kristallisierte; Ausb. 0.5 g (69% d.Th.). Beim Umkristallisieren aus Äthanol erhielt man kristalline Quader vom Schmp. 83°. Löslich in Alkohol, Äther, Dioxan, Benzol, Essigester und Natronlauge; unlöslich in Wasser, Petroläther und Natriumcarbonat-Lösung.

$C_{13}H_{11}O_4NS$ (277.3) Ber. C 56.31 H 4.00 N 5.06 S 11.57

Gef. C 56.01 H 3.79 N 4.79 S 11.54.

Optische Aktivität: $[\alpha]_D^{20} : -1.48^\circ \cdot 100/0.96 = -154^\circ$ (in 94-proz. Alkohol).

Veresterung des Kondensationsproduktes aus Ninhydrin und Cystein-hydrochlorid mit Diazomethan: Man trocknete 0.3 g des Kondensationsproduktes mehrere Stunden in der Trockenpistole, pulverte sehr gut und versetzte im Überschuß mit einer äther. Diazomethan-Lösung. Die Verbindung ging allmählich beim Umsatz in Lösung und wurde durch Absaugen von einer geringen Menge ungelöster Flocken getrennt. Dann engte man das äther. Filtrat i. Vak. ein und kristallisierte aus Petroläther. Eine Reinigung erreichte man durch Auflösen in wenig Alkohol und Ausfällen mit Wasser. Schmp. 80°; Misch-Schmp. mit dem Kondensationsprodukt aus Ninhydrin und Cysteinmethylester-hydrochlorid 80°.

$C_{13}H_{11}O_4NS$ (277.3) Ber. C 56.31 H 4.00 Gef. C 56.04 H 3.97.