

124. Richard Kuhn und Günter Quadbeck: Darstellung und Wirkungen von Acetyl-Derivaten des Cysteamins

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

(Eingegangen am 28. Juli 1951)

Äthylenimin reagiert mit Thioessigsäure unter Bildung von *N*-Acetyl-cysteamin, das durch Keten in *N.S*-Diacetyl-cysteamin und durch Essigsäureanhydrid in *N.N.S*-Triacetyl-cysteamin verwandelt werden kann. Die Di- und Triacetyl-Verbindung bewirken eine langanhaltende Blutdrucksenkung.

Nach H. Bestian¹⁾ addiert sich Schwefelwasserstoff an Äthylenimin unter Bildung von β -Mercapto-äthylamin (Cysteamin) $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{SH}$. Wie wir gefunden haben, erfolgt eine ähnliche Addition bei der Umsetzung von Äthylenimin mit Thioessigsäure: man erhält in guter Ausbeute *N*-Acetyl-cysteamin, $\text{H}_3\text{C} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{SH}$ (I), als farbloses Öl vom Sdp., 138–140° und daneben in geringer Menge *S*-Acetyl-cysteamin, $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{S} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$ (II), in farblosen, sehr hygroskopischen Kristallen. Die von H. Bestian untersuchte Addition von Mercaptanen führte in allen Fällen zu Verbindungen vom Typ $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{S} \cdot \text{R}$. Es ist nicht ausgeschlossen, daß auch bei der Reaktion mit Thioessigsäure in entsprechender Weise zunächst nur die *S*-Acetyl-Verbindung gebildet wird, die sich jedoch durch Wanderung der $\text{CO} \cdot \text{CH}_3$ -Gruppe vom Schwefel- zum Stickstoffatom stabilisiert (Acetylierung der NH_2 -Gruppe durch $-\text{S} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$).

Das *N*-Acetyl-cysteamin zeigt die Eigenschaften eines freien Thiols. Es erleidet an der Luft Autoxydation zum Disulfid $\text{H}_3\text{C} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{S} \cdot \text{S} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$, wobei das farblose Öl zu weißen Kristallen vom Schmp. 87° erstarrt; mit Bleiacetat, Sublimat und mit Silbernitrat erhält man schwer lösliche Fällungen; mit Jod in 90-proz. Essigsäure²⁾ läßt sich der Gehalt an SH-Gruppen quantitativ bestimmen. Es wirkt keratolytisch, blutzuckersteigernd, Adrenalin verstärkend und Alloxan entgiftend; es bewirkt bei der durch Sedormid verursachten Thrombocytopenie der Ratte einen raschen Anstieg der Thrombocytenzahlen zur Norm.

N.S-Diacetyl-cysteamin, $\text{H}_3\text{C} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{S} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$ (III), Schmp. 30°, ist aus *N*-Acetyl-cysteamin durch Einwirkung von Keten in praktisch quantitativer Ausbeute erhältlich. Lang dauernde Behandlung mit Keten führt zu *N.N.S*-Triacetyl-cysteamin, $(\text{H}_3\text{C} \cdot \text{CO})_2\text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{S} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$ (IV), einem farblosen Öl vom Sdp.₁₅ 164–166°.

N.S-Diacetyl-cysteamin und *N.N.S*-Triacetyl-cysteamin sind — ähnlich wie die *S*-Acetyl-Verbindung³⁾ des Coferments A⁴⁾, das Cysteamin als Baustein enthält⁵⁾ — starke Acetylierungsmittel. Sie reagieren mit Anilin unter Bildung

¹⁾ A. 566, 224 [1950].

²⁾ R. Kuhn, L. Birkofe u. F. W. Quackenbush, B. 72, 407 [1939].

³⁾ F. Lynen u. E. Reichert, Angew. Chem. 63, 47 [1951].

⁴⁾ F. Lipmann u. Mitarb., Journ. biol. Chem. 186, 235 [1950]; Journ. Amer. chem. Soc. 72, 4838 [1950].

⁵⁾ E. E. Snell u. Mitarb., Journ. Amer. chem. Soc. 72, 5349 [1950].

von Acetanilid und verstärken am isolierten Meerschweinchendarm die Wirkung von Cholin beträchtlich. Auffallend ist die langanhaltende blutdrucksenkende Wirkung beider Verbindungen, die sowohl bei peroraler wie bei parenteraler Verabreichung zu beobachten ist. An der Ratte genügt eine einmalige Gabe von 200 mg/kg der Diacetyl-Verbindung, um den Blutdruck bis zu 48 Stdn. um 30–50% zu senken. Am Kaninchen lässt sich die gefäßweiternde Wirkung schön demonstrieren.

Beschreibung der Versuche

N-Acetyl-cysteamin (I)

Darstellung: 250 g Thioessigsäure werden in 1700 ccm absol. Methanol gelöst und unter Kühlung auf +5° bis +10° mit 142 g Äthylenimin tropfenweise versetzt. Der Ansatz wird anschließend 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Man verjagt das Lösungsmittel und destilliert den Rückstand im Vakuum. Dabei geht zunächst eine geringe Menge einer Substanz über, die sich im Kühler und in der Vorlage kristallin absetzt (*S*-Acetyl-cysteamin). Die *N*-Acetyl-Verbindung folgt als farbloses Öl bei 138–140°/7 Torr. Ausb. 175 g (45% d. Th.); n_D^{20} 1.5100.

C_4H_9ONS (119.1) Ber. C 40.30 H 7.61 N 11.75 S 26.89 $COCH_3$ 36.11 $C-CH_3$ 12.61
Gef. C 40.40 H 7.44 N 11.70 S 26.72 $COCH_3$ 36.35 $C-CH_3$ 12.61

Die Substanz ist hygroskopisch; mit Wasser ist sie in jedem Verhältnis mischbar. Sie riecht knoblauchähnlich und wirkt keratolisch.

Toxizität: Bei intraperitonealer Einspritzung der wässr. Lösung (8.5-proz.) an 25 Ratten ergab sich die dl_{50} zu 400–450 mg *N*-Acetyl-cysteamin/kg Ratte. Der Tod erfolgt unter Atemkrämpfen. Die niedrigste Dosis, die strychninähnliche Krämpfe auslöste, betrug 200 mg/kg.

Wirkung auf den Blutdruck der Ratte: 50 mg/kg, s.c. gegeben, bewirkten einen kurzdauernden Anstieg um ~20 mm Hg, auf den ein Abfall auf 40 mm unter den Ausgangswert folgte.

Schutzwirkung gegen Alloxan: 5 Ratten erhielten je 20 mg *N*-Acetyl-cysteamin (je 0.2 ccm 10-proz. Lösung in Wasser) und unmittelbar darauf 50 mg Alloxantetrahydrat (je 1 ccm 5-proz. Lösung in Wasser) i.p. injiziert: 4 Tiere überlebten. Weitere 5 Ratten, die nur dieselbe Alloxanmenge erhalten hatten, starben innerhalb von 4 Tagen.

Steigerung des Blutzuckers: Am Kaninchen bewirkt die intravenöse Injektion von *N*-Acetyl-cysteamin (110–200 mg/kg in wässr. Lösung) Hyperglykämie. Die Blutzuckerwerte stiegen nach 1–3 Stdn. auf etwa 200–800 mg%; nach weiteren 2–4 Stdn. war der Blutzuckerspiegel wieder normal. Der Versuch lässt sich an ein und denselben Tieren mehrfach wiederholen.

Verstärkung der Adrenalin-Wirkung: Am Meerschweinchen-colon⁶⁾ ist eine Lösung von *N*-Acetyl-cysteamin in Tyrode-Lösung 1:100000 bis 1:1000000 unwirksam. Bei gleichzeitiger Einwirkung von Suprarenin 1:100000000 wird jedoch die Suprarenin-Wirkung etwa 10fach verstärkt bzw. verlängert.

Wirkung auf die durch Sedormid bedingte Thrombocytopenie: Die normale Thrombocytenzahl von 10 Ratten (etwa 800000/cmm Blut) ging nach peroraler Verabreichung von Allyl-isopropyl-acetyl-harnstoff (Sedormid, insgesamt 0.3 g je Tier im Laufe von 3 Wochen) durchschnittlich auf etwa die Hälfte (400000/cmm) herunter. Spritzte man den so geschädigten Ratten je 5 mg *N*-Acetyl-cysteamin i.p. ein, so stieg die Thrombocytenzahl innerhalb von 24 Stdn. wieder auf den Normalwert⁷⁾.

Verhalten gegen Schwermetallsalze: Eine wässr. Lösung von *N*-Acetyl-cysteamin gibt noch in sehr hoher Verdünnung mit Silbernitrat eine äußerst schwer lösliche,

⁶⁾ Versuchstechnik: G. Quadbeck, Ztschr. physiol. Chem. 285, 83 [1950].

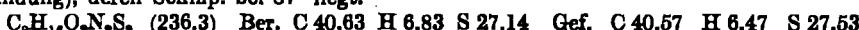
⁷⁾ P. Bigiardi, G. Quadbeck u. H. Weicker, Klin. Wschr. (im Druck).

weiße Fällung, die sich in verd. Salpetersäure nicht löst, aber in Ammoniak löslich ist. Mit Bleiacetat erhält man eine gelbe Fällung, mit Quecksilber(II)-chlorid einen weißen Niederschlag. Eisen-, Kobalt(II)- und Nickel(II)-Salz-Lösungen geben keine Fällung, auch nicht Arsenige Säure.

Nach Versuchen von Hrn. F. Moewus lassen sich die gegen Silber-Ionen noch in Verdünnung von $1:10^8$ empfindlichen⁸⁾ Gameten von *Chlamydomonas* durch *N*-Acetyl-cysteamin gegen die Wirkung der Ag^+ -Ionen schützen. Die Giftwirkung von Silbernitrat $1:10^6$ wurde durch die *N*-Acetyl-Verbindung $1:10^4$ völlig aufgehoben.

Jodometrische Gehaltsbestimmung: Die durch Destillation gewonnene Substanz gibt bei Titration mit n_{100} Jod in 90-proz. Essigsäure⁹⁾ Werte, die 93–94% d.Th. an SH-Gruppen entsprechen. Dieses Verfahren eignet sich auch, um den Gehalt von Lösungen zu kontrollieren.

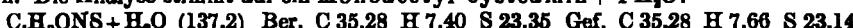
Autoxydation: Bei Zutritt von Luft erstarrt das ölige *N*-Acetyl-cysteamin (SH-Verbindung) allmählich zu farblosen Nadeln von *N,N*'-Diacetyl-cystamin (-S-S-Verbindung), deren Schmp. bei 87° liegt.



Das Disulfid ist nicht mehr hygroskopisch, aber in Wasser noch sehr gut löslich. Es ist gegen Jod in 90-proz. Essigsäure beständig.

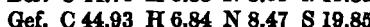
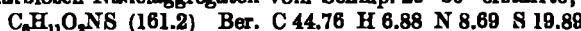
S-Acetyl-cysteamin (II)

Der kristalline Anflug, der sich bei der Destillation der *N*-Acetyl-Verbindung im Kühler abscheidet, bevor das *N*-Acetyl-cysteamin übergeht, schmilzt bei 61° . Diese Substanz reagiert in währ. Lösung stark alkalisch und setzt sich mit Nitroprussidnatrium (im Gegensatz zur *N*-Acetyl-Verbindung) nicht sofort um; es tritt erst allmählich Violettfärbung ein. Die Analyse stimmt auf ein Monoacetyl-cysteamin + $1\text{H}_2\text{O}$:



N,S-Diacetyl-cysteamin (III)

Darstellung: 30 g *N*-Acetyl-cysteamin wurden in 300 cm³ absol. Äther gelöst. Durch diese Lösung leiteten wir 3 Stdn. einen kräftigen Keten-Strom. Nach dem Verjagen des Äthers wurde i. Vak. mit einer kleinen Kolonne fraktioniert. Nach einem Vorlauf von 5 cm gingen bei $181-182^\circ/15$ Torr 20 g eines farblosen, kaum riechenden Öls über, das zu farblosen Nadelaggregaten vom Schmp. $29-30^\circ$ erstarrte; $n_D^2 1.5069$.



In einem weiteren Versuch wurden aus 200 g *N*-Acetyl-cysteamin 260 g *N,S*-Diacetyl-cysteamin (96% d.Th.) vom Schmp. $29-30^\circ$ erhalten. Die Substanz ist in Wasser gut löslich.

Acetylierung ohne Lösungsmittel: In 50 g *N*-Acetyl-cysteamin leitet man einen kräftigen Strom von Keten ein, wobei Erwärmung eintritt. Nach 2 Stdn. beträgt die Gewichtszunahme 25 g. Durch Destillation erhält man 65 g (96.5% d.Th.) reines *N,S*-Diacetyl-cysteamin vom Sdp.₁₂₋₁₃ 179° , das in der Kälte sofort kristallisiert und dann bei 30° schmilzt.

Acetylierung von Anilin: 0.01 Mol *N,S*-Diacetyl-cysteamin und 0.01 Mol Anilin wurden i. Vak. kurz auf 140° erwärmt, wobei *N*-Acetyl-cysteamin abdestillierte. Das gebildete Acetanilid kristallisierte aus Alkohol in Schuppen vom Schmp. 113° (Mischprobe).

Acetylierung von Cholin: In Versuchen am isolierten Meerschweinchen-colon wurden die durch Cholin 1:100000 bewirkten Kontrakturen kymographisch registriert. Auf Zusatz von *N,S*-Diacetyl-cysteamin 1:100000 wurden gleich starke Kontrakturen schon durch Cholin 1:500000 bewirkt. Die *N,S*-Diacetyl-Verbindung allein war in der angewandten Verdünnung ohne Wirkung.

⁸⁾ R. Kuhn, I. Löw u. F. Moewus, Naturwiss. 30, 373 [1942].

Prüfung an Kaninchen: 200 mg/kg Kaninchen i.v. gegeben, rufen leichte Erregungszustände hervor, die bald wieder abklingen. 2 g/kg führen unter klonischen Krämpfen zu Schnappatmung und Tod innerhalb von 20 Minuten. Tägliche i.v.-Injektionen von 100 mg/kg wurden 50 Tage lang gut vertragen. Die Blutzuckerwerte blieben dabei normal (Unterschied zur Blutzuckersteigerung nach *N*-Acetyl-cysteamin). Schon während der Injektion erweitern sich die Blutgefäße für lange Zeit. Spritzt man z.B. ins linke Ohr, so sieht man nach wenigen Sekunden wie im rechten Ohr des Kaninchens die Blutgefäße anschwellen. Diese Wirkung hält viele Stunden an.

Blutdrucksenkung an der Ratte: Nach dem Prinzip von J. R. Williams, A. Grollmann und T. R. Harrison⁹⁾ (apparativ modifiziert) wurde der Blutdruck am Schwanz von nicht narkotisierten Ratten gemessen. Es ergab sich, daß sowohl bei peroraler wie bei intraperitonealer Zufuhr von 200 mg/kg Ratte der Blutdruck von 100 bis 130 mm Hg auf 50–70 mm Hg gesenkt wird und daß erst nach 48 Std.(!) der Blutdruck allmählich wieder auf den normalen Ausgangswert ansteigt. Mit 100 mg/kg Ratte hält die Blutdrucksenkung etwa 24 Std. an.

Orientierende Versuche an Ratten, deren Blutdruck künstlich auf 160–180 mm Hg erhöht worden war – a) durch fortgesetzte hohe Gaben von Desoxycorticoesteron und b) durch Nieren-Einkapselung nach F. Zbinden^{10,11)} – zeigten gleichfalls eine Blutdrucksenkung nach i.p.-Gabe von 200 mg *N.S*-Diacetyl-cysteamin/kg, die durchschnittlich 60 mm Hg betrug.

Aufhebung der Adrenalin-Wirkung: Am Meerschweinchen-colon¹⁰⁾ werden die durch Suprarenin 1:10000000 bewirkten Erschlaffungen durch *N.S*-Diacetyl-cysteamin 1:100000 verhindert. Die Diacetyl-Verbindung allein ist in dieser Verdünnung ohne Wirkung.

N.N.S-Triacetyl-cysteamin (IV)

32 g *N*-Acetyl-cysteamin wurden mit 160 ccm Essigsäureanhydrid 1 Stde. unter Rückfluß (Durchleiten von reinem Stickstoff) erhitzt. Nach Abdestillieren des überschüss. Anhydrids haben wir i. Vak. fraktioniert, wobei die Hauptmenge (36 g) bei 166 bis 168°/15 Torr als zähes, farbloses Öl überging; Ausb. 65% d.Theorie. Zur Analyse wurde nochmals im Hochvak. destilliert; n_D²⁰ 1.5022.

C₈H₁₅O₅NS (203.2) Ber. C 47.27 H 6.45 N 8.89 S 15.78
Gef. C 46.93 H 6.04 N 8.84 S 15.77

Die Substanz erstarrt, wenn man sie mit Eis kühlst, kristallin. In Wasser ist sie nur wenig löslich. In mancher Hinsicht (Blutdrucksenkung, Verstärkung der Cholinwirkung, Acetylierung von Anilin) ist sie der *N.S*-Diacetyl-Verbindung recht ähnlich.

Hrn. Erich Röhm danken wir für wertvolle präparative Hilfe, Frln. Elfriede Klinger für die Ausführung der Blutzuckerbestimmungen.

9) Journ. clin. invest. 18, 373 [1939].

10) Helv. Physiol. Acta 4, 513 [1946].

11) Für die Überlassung solcher Tiere haben wir Hrn. Dr. A. Bohle sehr zu danken.