

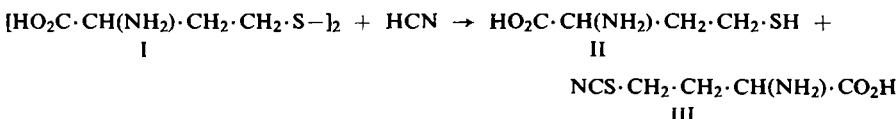
ALFONS SCHÖBERL und MAGDALENA KAWOHL
DIE CYANIDSPALTUNG VON HOMOCYSTIN¹⁾

Aus dem Chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover

(Eingegangen am 24. Juni 1957)

Die präparative Aufarbeitung der KCN-Spaltung von Homocystin lieferte Homocystein und 2-Amino-penthiazolin-carbonsäure-(4). Das zweite Spaltstück, ein heterocyclischer Sechsring, bildet sich durch Cyclisierung der primär entstehenden α -Amino- γ -rhodan-buttersäure, wobei NH₂- und SCN-Gruppe in 1.3-Stellung den Ringschluß bewirken. Die 2-Amino-penthiazolin-carbonsäure-(4) bildet ein Kupfersalz. Bei Alkalibehandlung erleidet sie sehr leicht Ringspaltung zu α -Ureido- γ -mercapto-buttersäure. Dies ist für ihre Struktur beweisend.

Das Thiol-Disulfid-System Homocystein/Homocystin (I) spielt bekanntlich im Stoffwechsel bei der Umwandlung von Methionin in Cystin eine bemerkenswerte Rolle²⁾. Auch im Homocystin (I), das in dem vorliegenden Zusammenhang als ein Derivat des Bis-[γ -amino-propyl]-disulfids (Homocystamin) (H₂N·CH₂·CH₂·CH₂·S)₂ betrachtet wird, reagiert die S—S-Bindung mit disulfidspezifischen Reagenzien. So erfolgt beispielsweise eine qualitativ und quantitativ ausnutzbare Umsetzung mit Kaliumcyanid, die sich in Analogie zu der bei anderen Disulfiddicarbonsäuren³⁾ in einem Primärschritt folgendermaßen abspielen sollte:



Sie ist bisher noch nicht systematisch studiert worden. Die Bildung von Homocystein (II) läßt sich zwar leicht durch den bekannten Farbtest mit Nitroprussid-natrium nachweisen²⁾, es fehlen aber Versuche zur Identifizierung des zweiten Spaltstückes völlig. Dieses sollte die α -Amino- γ -rhodan-buttersäure (III) sein.

In früheren Untersuchungen konnten wir zeigen⁴⁾, daß die durch eine analoge Cyanidspaltung von Cystin primär entstehende α -Amino- β -rhodan-propionsäure gar nicht existiert, sondern infolge günstiger Stellung von NH₂- und SCN-Gruppe zueinander eine Cyclisierung zu 2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4) eingeht. Es war daher noch die Frage zu entscheiden, ob bei der aus Homocystin (I) anfallenden Rhodanverbindung III ebenfalls eine solche Cyclisierung zu einem homologen, heterocyclischen Ringsystem stattfindet. Der zu erwartende Sechsring gehört im übrigen einer bisher so gut wie unbekannten Substanzklasse an.

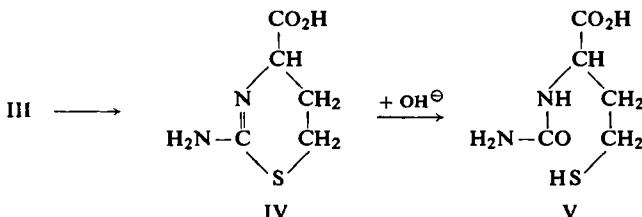
¹⁾ VII. Mitteil. in der Untersuchungsreihe „Zur Kenntnis der Einwirkung von Cyaniden auf Disulfide“; VI. Mitteil.: A. SCHÖBERL und M. KAWOHL, Mh. Chem., im Druck.

²⁾ A. SCHÖBERL und G. TÄUBER, Liebigs Ann. Chem. 599, 23 [1956].

³⁾ A. SCHÖBERL und E. LUDWIG, Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 1422 [1937].

⁴⁾ A. SCHÖBERL, M. KAWOHL und R. HAMM, Chem. Ber. 84, 571 [1951].

Es zeigte sich in der Tat, daß sich auch die α -Amino- γ -rhodan-buttersäure (III) unter den Bedingungen der Cyanidspaltung zu 2-Amino- Δ^2 -dihydro-1,3-thiazin-carbonsäure-(4), die in Analogie zur Nomenklatur des zugrunde liegenden Ring-systems auch 2-Amino-penthiazolin-carbonsäure-(4) (IV) genannt werden kann, cyclisiert⁵⁾:



Die Substituenten ermöglichen also auch in 1,3-Stellung zueinander eine Ringbildung. Zur Isolierung dieses zweiten Spaltproduktes war es zweckmäßig, die Cyanideinwirkung auf Homocystin (I) in Gegenwart von Benzylchlorid vorzunehmen. Dadurch konnte das die Aufarbeitung störende Homocystein (II) als Benzylthioäther abgetrennt werden.

Wie die 2-Amino-thiazolin-carbonsäure-(4) aus dem Cystin bildet auch die inaktive Penthiazolin-carbonsäure IV ein zur Isolierung geeignetes, verhältnismäßig schwer lösliches Kupfersalz, das ohne Kristallwasser kristallisiert. Die freie Säure selbst fällt als Monohydrat an. Von dem Ampholyten IV läßt sich mit Salzsäure ein Hydrochlorid herstellen. Eigenschaften, die für die Anwesenheit einer Rhodangruppe sprechen, waren nicht nachweisbar.

Der Beweis für die Ringstruktur von IV gelingt durch Alkalispaltung. Wie im Falle des homologen Fünfringes wird auch der Sechsring durch Natronlauge leicht aufgesprengt, und es entsteht α -Ureido- γ -mercaptop-buttersäure (V). Dieses Mercaptan wurde als Benzylthioäther abgefangen und identifiziert. Die α -Amino- γ -rhodan-buttersäure (III) hätte dagegen bei Alkalibehandlung Homocystein (II) liefern müssen. Die schwache Stelle des Sechsringes ist also die Bindung zwischen C-2 und dem S-Atom. Diese Ringsprengung bietet damit auch eine Möglichkeit für Nachweis und Bestimmung solcher Substanztypen auf Mercaptanbasis. Eine Verbesserung der Ausbeute an IV durch gleichzeitige Einwirkung von Kaliumcyanid und Wasserstoffperoxyd, wie dies beim Cystin zum Erfolg führte⁶⁾, war hier nicht möglich.

Wir danken für die Unterstützung auch dieser Untersuchungen durch Sachbeihilfen der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und des FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE. Die eine von uns (K.) bedankt sich ferner für ein Stipendium der Fa. KALI-CHEMIE AG., Hannover.

⁵⁾ Mit der Möglichkeit einer tautomeren Formulierung als 2-Imino-penthiazolidin-Derivat beschäftigen wir uns hier nicht. Diese Frage soll auch bei anderen Systemen dieser Art später geklärt werden.

⁶⁾ A. SCHÖBERL und R. HAMM, Chem. Ber. 81, 210 [1948].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

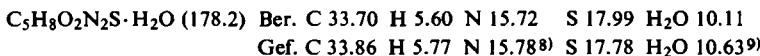
1. Cyanidspaltung von Homocystin (I)

a) Eine Lösung von 1.3 g inakt. *Homocystin* und 5 g *Kaliumcyanid* in 100 ccm Wasser wurde mit 5 ccm Benzylchlorid $1\frac{1}{2}$ Stdn. bis zur negativen SH-Reaktion mit Nitroprussidnatrium (= NPN) geschüttelt. Der Farbstest war bereits nach wenigen Minuten stark positiv. Es folgte Beseitigung des überschüssigen Benzylchlorids durch Ausschütteln mit Äther. Beim schwachen Ansäuern mit verd. Salzsäure (Entweichen von Blausäure!) färbte sich die Lösung dunkelrot, und es schied sich eine geringe Menge eines dunklen Harzes ab. Nach dem Klären mit Carboraffin wurde durch Einstellen der Lösung auf p_{H} 6–7 das *S-Benzyl-DL-homocystein* vom Zers.-P. etwa 240° (aus Wasser/Äthanol)²⁾ ausgefällt und möglichst quantitativ in Äther getrieben. Nach dem Eindampfen der wäßr. Lösung i. Vak. zur Trockene, Aufnahme des Rückstandes mit Wasser und Filtration wurde das blaue *Kupfersalz der 2-Amino-penthiazolin-carbonsäure-(4) (IV)* mit einer Kupfer(II)-acetatlösung gefällt⁶⁾. Ausb. rund 80% d. Th. Durch Auflösen in verd. Salzsäure und Abstumpfen mit Natriumacetat wurde umkristallisiert.



b) Oxydative Cyanidspaltung: In Analogie zu der früher mitgeteilten Cystinaufarbeitung⁶⁾ ließ man bei Raumtemperatur 5 g *Homocystin* und 13 g *Kaliumcyanid* miteinander reagieren und oxydierte gleichzeitig langsam bis zur jeweils negativen SH-Reaktion mit NPN mit etwa 150 ccm 3-proz. Wasserstoffperoxydlösung. Es wurden 3 derartige Ansätze durchgeführt und aufgearbeitet. Die Lösungen färbten sich in allen Fällen stark gelb. Die beste Ausbeute an Kupfersalz betrug 32% d. Th. Auch eine besonders vorsichtig unter Eiskühlung in dieser Weise vorgenommene Spaltung führte nicht zum Ziel. Die prompte Oxydation des Cyanids zu Cyanat war dabei auffallend.

2. *DL-2-Amino-penthiazolin-carbonsäure-(4) (IV)*: Das oben unter 1. dargestellte Kupfersalz wurde in Wasser aufgeschlämmt und mit H_2S zersetzt. Beim weitgehenden Einengen des klaren Filtrates i. Vak. kristallisierte die Säure aus. Löslichkeit in Wasser bei Raumtemperatur: 30 mg/1 ccm. Zers.-P. 238–240°.



Hydrochlorid: Die salzaure Lösung der freien Säure wurde auf dem Wasserbad bis zur beginnenden Kristallisation eingeengt. Zers.-P. etwa 197°.



3. *Alkalispaltung von DL-2-Amino-penthiazolin-carbonsäure-(4) (IV)*: Eine Lösung der Säure in 2 n NaOH wurde bei gelegentlichem schwachem Erwärmen im Wasserbad mit überschüss. Benzylchlorid bis zur negativen SH-Reaktion 20 Min. geschüttelt. Beim Ansäuern fiel der kristallisierte Thioäther *α-Ureido-γ-benzylmercapto-buttersäure* aus. Schmp. 156° nach Umkristallisation aus Wasser.



⁷⁾ Mittelwert aus 3 jodometrischen Titrationen.

⁸⁾ Kjeldahlbestimmung.

⁹⁾ Trocknen über P_2O_5 bei 110° in Trockenpistole (Ölpumpenvakuum).