

PETER HERMANN

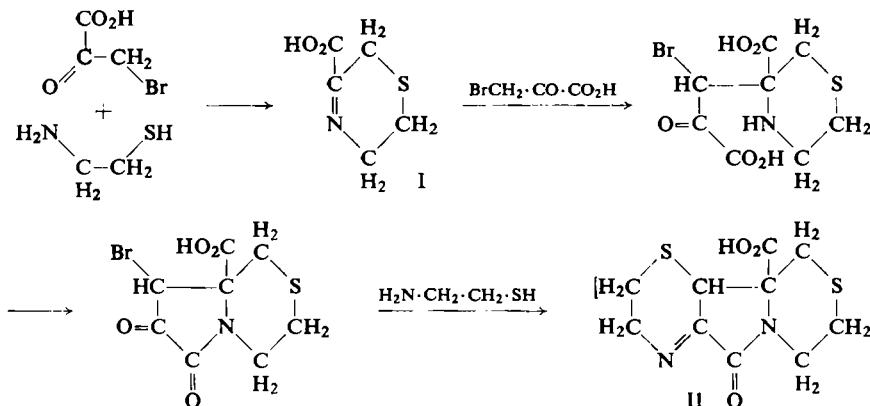
## Zur Reaktion von Halogenbrenztraubensäure mit Thiolaminen

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Halle (Saale)

(Eingegangen am 11. August 1960)

Die Umsetzung von Brombrenztraubensäure mit Cysteamin führt zu einem tricyclischen Kondensationsprodukt, das, wahrscheinlich über die Stufe eines Dioxopyrrolidins, durch Reaktion von je zwei Molekülen der Reaktionspartner entsteht. Es wird angenommen, daß bei der analytischen Anwendung der Reaktion Dihydro-1,4-thiazin-carbonsäuren-(3) entstehen.

Über die Reaktionen, die bei dem Verfahren der spektrophotometrischen Bestimmung von gewissen Thiolaminen (Cystein, Cysteamin usw.) durch Reaktion mit Halogenbrenztraubensäure<sup>1)</sup> ablaufen, war bisher nur die Thioätherbildung unter Abspaltung von Halogenwasserstoff bekannt<sup>2,3)</sup>. Die Formulierung der Reaktion war



jedoch aus verschiedenen Gründen nicht befriedigend<sup>1-3)</sup>. In dem Glauben, daß Derivate der 5,6-Dihydro- $\Delta$ 3,4-1,4-thiazin-carbonsäure-(3) (I) entstehen sollten, versuchten wir vor einigen Jahren, derartige Verbindungen unter den Bedingungen des spektrophotometrischen Verfahrens ( $p_{\text{H}}$  7–8, wäßriges Milieu) präparativ darzustellen.

Zur versuchsweisen Darstellung von I wurde eine auf  $p_{\text{H}}$  7–8 eingestellte konzentrierte wäßrige Lösung von Cysteamin und Brombrenztraubensäure (Molverhältnis 1:1) angesäuert, wobei ein gelber kristalliner Niederschlag auftrat. Die Analyse ergab aber die Summenformel  $C_{10}H_{12}N_2O_3S_2$ ; Aminostickstoff- (van Slyke) und Carbonylnachweise waren negativ. Beim Erhitzen der wäßrigen Suspension trat unter  $CO_2$ -

<sup>1)</sup> Y. AVI-DOR und J. MAGER, J. biol. Chemistry 222, 249 [1956].

<sup>2)</sup> R. A. PETERS und R. J. HALL, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 26, 433 [1957].

<sup>3)</sup> Y. AVI-DOR, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 34, 266 [1959].

Abspaltung Lösung ein, beim Abkühlen wurde eine gelbe, kristalline Substanz der Zusammensetzung  $C_9H_{12}N_2OS_2$  erhalten. Unter unseren Bedingungen, insbesondere also bei hoher Konzentration der Partner, entsteht also nicht I, sondern ein Kondensationsprodukt aus je 2 Moll. der Reaktionspartner unter Abspaltung von 2 Moll. Bromwasserstoff und 3 Moll. Wasser. Auf der Suche nach derartigen Kondensationen stießen wir in der Literatur auf die Kondensationen von Brenztraubensäure mit aromatischen Aminen, die als Alternative zur DOEBNER-v. MILLERSCHEN Brenztraubensäurevariante der Chinolinsynthese gelegentlich zu Pyrrolidonederivaten führen<sup>4-7)</sup>. Unterstützt durch das IR-Spektrum nehmen wir die Struktur II und den im Formelschema auf S. 442 dargelegten Weg zu ihrer Bildung an.

Das chemische und Löslichkeitsverhalten von II entspricht dem ähnlichen Pyrrolidoncarbonsäurederivate<sup>4,5,7)</sup>. Das IR-Spektrum von II zeigt eine NH-Bande, die Verbindung liegt daher in der tautomeren Form  $-\text{NH}-\overset{\text{C}}{\underset{\text{C}}{\text{C}}}=\text{C}-$  vor. Das UV-Spektrum von II (und vom Decarboxylierungsprodukt) (Kurve A der Abbild., S. 445,  $\epsilon_{\text{max } 308 \text{ m}\mu} = 5.12 \cdot 10^3$ ) ist von dem Spektrum der bei der analytischen Bestimmungsmethode<sup>1)</sup> anfallenden Substanz deutlich verschieden.

Leider erfuhren wir erst kürzlich<sup>8)</sup> von einer Arbeit von I. T. STRUKOW<sup>9)</sup> über die Kondensation von  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -mercapto-carbonsäureestern mit Brombrenztraubensäure, die im Falle des Cysteinmethylesters zu 5-Carbomethoxy-5,6-dihydro- $\Delta^{3,4}$ -1,4-thiazin-carbonsäure-(3) führt. Wir haben diese Verbindung jetzt ebenfalls nach STRUKOW in Chloroform dargestellt und ihr UV-Spektrum gemessen (Kurve B). Es entspricht in Größe von  $\epsilon$  ( $5.45 \cdot 10^3$ ) sowie Lage von Maximum (296 m $\mu$ ) und Minimum (236 m $\mu$ ) den Angaben von AVI-DOR und MAGER<sup>1)</sup>. Setzten wir dagegen Cysteamin in Chloroform mit Brombrenztraubensäure um, so erhielten wir die Substanz II; die Reaktion bleibt also auch im organischen Lösungsmittel nicht auf der Stufe des Dihydrothiazins I stehen.

Da bei der analytischen Prozedur ( $10^{-3}$ — $10^{-4}$  molare Lösungen) mit Cysteamin bzw. Cystein Substanzen mit dem UV-Spektrum des Dihydrothiazinderivates von STRUKOW entstehen (Kurve B), bei unseren präparativen Ansätzen (1—2 molare Lösungen) wohl infolge der angewandten hohen Konzentration die Reaktion nicht auf dieser Stufe stehen bleibt und auch andere UV-Spektren erhalten werden, kann angenommen werden, daß sich unter den Bedingungen des analytischen Verfahrens mit Cysteamin die Verbindung I bildet (also allgemein Dihydro-1,4-thiazin-carbonsäuren-(3)). Mit Cystein im präparativen Ansatz konnten wir in wäßrigem Milieu kein Reaktionsprodukt isolieren, das UV-Spektrum der nachträglich verdünnten Reaktionsmischung entsprach dem Verlauf der Kurve A. Die analytische Methode ergab mit Cystein ein UV-Spektrum mit dem Verlauf der Kurve B.

<sup>4)</sup> L. J. SIMON, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **144**, 138 [1907]; **147**, 125 [1908].

<sup>5)</sup> W. BORSCHE, Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 3884 [1908]; **42**, 4072 [1909].

<sup>6)</sup> R. E. LUTZ, P. S. BAILEY, M. T. CLARK, J. F. CODINGTON, A. J. DEINET, J. A. FREEK, G. H. HARVEST, N. H. LEAKE, T. A. MARTIN, R. J. ROWLETT JR., J. M. SALSBURY, N. H. SHEARER JR., J. D. SMITH und J. W. WILSON, J. Amer. chem. Soc. **68**, 1813 [1946].

<sup>7)</sup> E. DANE, O. BALCKE, H. HAMMEL und F. MÜLLER, Liebigs Ann. Chem. **607**, 92 [1957].

<sup>8)</sup> C. 1960, 2874. <sup>9)</sup> J. allg. Chem. (russ.) **28**, 69 [1958].

Die Substanz II gibt bei der Papierchromatographie mit Butanol/Eisessig/Wasser die auch von PETERS und HALL<sup>2)</sup> beobachteten UV-fluoreszierenden Flecke (a, b, c). Schneidet man die Flecke aus und rechromatographiert sie einzeln, so wird c in a, b und c aufgetrennt, b in a und b, a wird nicht aufgespalten. Im Gemisch Äthanol/Ammoniak/Wasser gibt die Substanz II nur einen schwach fluoreszierenden Fleck, der, im sauren Gemisch rechromatographiert, in a, b und c aufgespalten wird. Versuche, die Produkte a, b und c, die unter den Bedingungen der Chromatographie entstehen und nicht schon bei der Umsetzung der Reaktionspartner, präparativ an Cellulosesäulen zu trennen und zu isolieren, waren bisher erfolglos. Das Decarboxylierungsprodukt von II sowie das Dihydrothiazinderivat von STRUKOW gaben bei der Papierchromatographie jeweils nur einen Fleck.

Herrn Dr. A. SCHELLENBERGER danke ich für Literaturhinweise, Herrn Dr. A. KOLBE für Diskussion der IR-Spektren.

#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*Brombrenztraubensäure* wurde nach J. WEGMANN und H. DAHN<sup>10)</sup>, *Cysteamin* nach E. J. MILLS JR. und M. T. BOGERT<sup>11)</sup>, *5-Carbomethoxy-5,6-dihydro-4<sup>3.4</sup>-1,4-thiazin-carbonsäure-(3)* nach STRUKOW<sup>9)</sup>, *L-Cystein-methylester-hydrochlorid* in üblicher Weise aus *L-Cystein-hydrochlorid* mit Chlorwasserstoff in Methanol in Stickstoffatmosphäre dargestellt.

##### *Kondensation von Cysteamin mit Brombrenztraubensäure zur Verbindung II*

a) *in wässrigem Milieu*: Die Lösung von 5.0 g *Brombrenztraubensäure* in 20 ccm Wasser wurde unter Eiskühlung und Durchleiten von Stickstoff mit 2.3 g *Cysteamin* versetzt, mit 6 n KOH auf  $p_{\text{H}}$  7–8 eingestellt und für 15 Min. dabei belassen. Durch Ansäuern mit 5 n HCl wurde ein gelber krist. Niederschlag erhalten, der in Wasser und organischen Lösungsmitteln unlöslich war und nur über das Salz gereinigt werden konnte. 1.8 g (Ausb. 44% d. Th.). Schmp. 143–144° (Zers.).

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$  (II) (272.3) Ber. C 44.15 H 4.41 N 10.29 S 23.55  
Gef. C 44.75 H 4.8 N 10.3 S 23.2

IR-Spektrum: NH : 3390/cm, COO– : 1640/cm, CO–NR<sub>2</sub> : 1730/cm, C=C : 1685/cm.

b) *in Anlehnung an Strukow<sup>9)</sup>*: Zu 3.5 g *Cysteamin* in 60 ccm wasserfreiem Chloroform wurden unter Kühlung und Rühren 6.8 g *Brombrenztraubensäure* gegeben und 7.0 ccm Triäthylamin (20% Überschuß) tropfenweise zugesetzt. Es kam darauf zu Gelbfärbung und Abscheidung eines dunkelbraunen Öls auf der Chloroformschicht (z. T. das Triäthylaminsalz von II). Die Mischung wurde 2 mal mit 10 ccm Wasser und einmal mit 5-proz. Natriumcarbonatlösung gewaschen, die vereinigten Extrakte mit 5 n HCl angesäuert und der Niederschlag mehrfach über das Natriumsalz (0.1 n NaOH oder 5-proz. Natriumcarbonatlösung) gereinigt. Der Zersetzungspunkt betrug im besten Fall 140°, die Ausbeute an Rohprodukt 3.0 g (48% d. Th.).

*Decarboxylierungsprodukt von II*: Die Suspension von 0.5 g von nach a) oder b) gewonnenem II in 40 ccm Wasser wurde zum Sieden erhitzt, wobei unter CO<sub>2</sub>-Entwicklung Lösung eintrat. Beim Abkühlen trübe sich die Lösung, auf Reiben kristallisierte ein gelber Niederschlag aus.

<sup>10)</sup> Helv. chim. Acta **29**, 415 [1946].

<sup>11)</sup> J. Amer. chem. Soc. **62**, 1173 [1940].

Schmp. 137–138°. Ausb. 0.33 g (79 %, berechnet auf die Abspaltung von 1 CO<sub>2</sub> aus der Substanz II).

C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>OS<sub>2</sub> (228.3) Ber. C 47.35 H 5.26 N 12.27 S 28.09

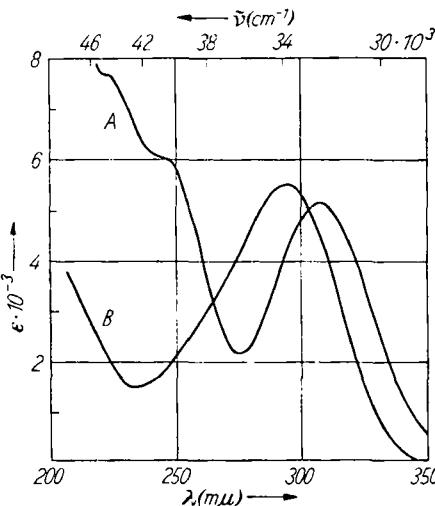
Gef. C 47.40 H 5.45 N 11.9 S 27.85

Mol.-Gew. (nach RAST in Campher) 229.4

Die Substanz kann durch Einengen mit einem Überschuß Salzsäure oder durch Lösen der methanol. Suspension mit Chlorwasserstoff und Fällen mit Äther in ein Hydrochlorid vom Schmp. 188° (Zers.) umgewandelt werden. Das IR-Spektrum der Verbindung C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>OS<sub>2</sub> zeigt die CO—NR<sub>2</sub>-Bande bei 1695/cm, C=C bei 1645–1650/cm, eine NH-Bande fehlt, statt dessen werden Banden bei 3260 und 3340/cm gefunden, mit salpetriger Säure ist eine NH<sub>2</sub>-Gruppe jedoch nicht nachweisbar.

*Papierchromatographie der Kondensationsprodukte:* Es wurde auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 a mit den Gemischen Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5) und Äthanol/Ammoniak (25-proz.)/Wasser (80:4:16) aufsteigend chromatographiert. Lage der UV-fluoreszierenden Flecken: a) R<sub>F</sub> 0.27 türkis; b) R<sub>F</sub> 0.55–0.65 violett (2 dicht benachbarte Flecke); c) R<sub>F</sub> 0.86 gelb.

UV-Absorptionsspektren der Verbindung II (A) und der Dihydrothiazinverbindung von STRUKOW (B) in 0.04 m Trispuffer, pH 8.0



Die *analytische Bestimmungsmethode* für Thiolamine wurde unter Verwendung von Brombrenztraubensäure statt Fluorbrenztraubensäure nach den Angaben von AVI-DOR und MAGER<sup>1)</sup> durchgeführt und die dort angegebenen UV-Spektren erhalten.