

ERICH DÄBRITZ \*) und ARTTURI I. VIRTANEN

## **S-Vinyl-cystein-S-oxid, ein Homologes zur Vorstufe der tränentreibenden Substanz der Zwiebel**

Aus dem Biochemischen Forschungsinstitut Helsinki, Finnland

(Eingegangen am 27. August 1964)

S-Vinyl-cystein-S-oxid (IX) und sein Cyclisierungsprodukt 1.4-Thiazan-carbonsäure-(3)-l-oxid (X), „Nor-cycloalliin“, werden aus den ebenfalls bislang nicht synthetisierten Thioäthern S-Vinyl-cystein (VIII) bzw. 1.4-Thiazan-carbonsäure-(3) (VI) dargestellt. Vinylsulfensäure (XI), eine neue tränentreibende Substanz, wird nach enzymatischer Spaltung von IX massenspektrometrisch nachgewiesen.

Wie bereits in einer Kurzmitteilung<sup>1)</sup> berichtet, gelang uns der Nachweis einer neuen, „zwiebelartig“ tränentreibenden Substanz durch enzymatische Spaltung des bisher unbekanntes S-Vinyl-cystein-S-oxids (IX), dessen Synthese und Struktur inzwischen durch analytische Daten gesichert werden konnten.

Die Vorstufe der tränentreibenden Substanz der Zwiebel ist S-[ $\Delta^1$ -Propenyl]-l-cystein-S-oxid (I), das erstmalig in diesem Laboratorium aus Küchenzwiebel, *Allium cepa*, isoliert wurde<sup>2)</sup> und in der Zwiebel größtenteils als  $\gamma$ -Glutamylpeptid vorliegt<sup>3)</sup>. Bei der Einwirkung von Zwiebelenzym auf I wird die tränenerzeugende Substanz,  $\Delta^1$ -Propenylsulfensäure (II), gebildet<sup>4,5)</sup>; in schwach alkalischer Lösung cyclisiert I zu 3-Methyl-1.4-thiazan-carbonsäure-(5)-l-oxid (III), dem sog. Cycloalliin, das schon früher als seine lineare Vorstufe in der Zwiebel aufgefunden wurde<sup>6-10)</sup>.

Anlaß zu der vorliegenden Untersuchung war eine japanische Veröffentlichung<sup>11)</sup>, in der eine dem Cycloalliin homologe Verbindung, 1.4-Thiazan-carbonsäure-(3)-l-oxid (X), beschrieben wird, die aus Braunalgen, *Undaria pinnatifida*<sup>12)</sup>, und Rotalgen, *Chondria crassicaulis*<sup>13,14)</sup>, isoliert worden war. Es erschien naheliegend, auch für das „Nor-cycloalliin“ (X) der Algenarten eine lineare Vorstufe anzunehmen, zumal

\*) Jetzige Anschrift: Wissenschaftliches Hauptlaboratorium der Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen-Bayerwerk.

1) E. DÄBRITZ und A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. **18**, 837 [1964].

2) A. I. VIRTANEN und C.-G. SPÄRE, Suomen Kemistilehti B **34**, 72 [1961].

3) A. I. VIRTANEN und E. J. MATIKKALA, Suomen Kemistilehti B **34**, 84, 114 [1961].

4) A. I. VIRTANEN und C.-G. SPÄRE, Suomen Kemistilehti B **35**, 28 [1962].

5) C.-G. SPÄRE und A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. **17**, 641 [1963].

6) A. I. VIRTANEN und E. J. MATIKKALA, Suomen Kemistilehti B **29**, 134 [1956].

7) E. J. MATIKKALA und A. I. VIRTANEN, Suomen Kemistilehti B **30**, 219 [1957].

8) A. I. VIRTANEN und E. J. MATIKKALA, Suomen Kemistilehti B **31**, 191 [1958].

9) A. I. VIRTANEN und E. J. MATIKKALA, Acta chem. scand. **13**, 623 [1959].

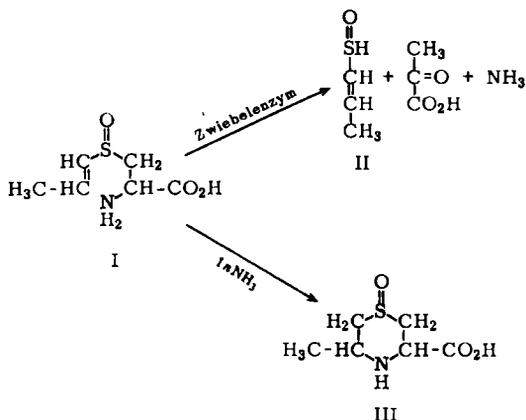
10) A. I. VIRTANEN, Angew. Chem. **74**, 374 [1962]; Angew. Chem. internat. Edit. **1**, 299 [1962].

11) F. TOMINAGA und K. OKA, J. Biochemistry [Tokyo] **54**, 222 [1963].

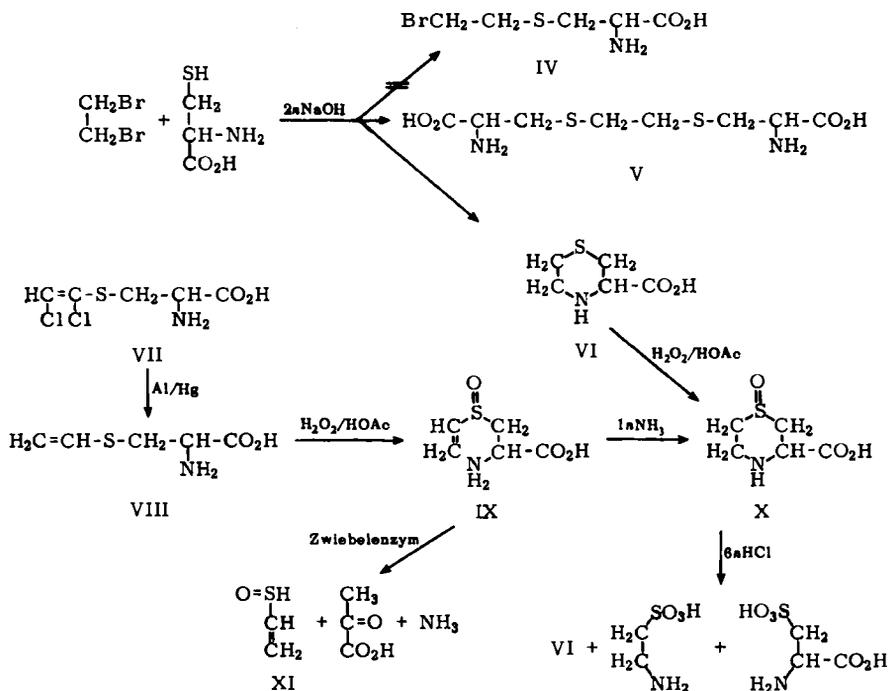
12) K. OKA, S. TANAKA, H. HASEGAWA, H. IMAJO, I. FUJISHIRO und R. KONISHI, Nagasaki Igakkai Zasshi **35**, 564 [1960], C. A. **54**, 17580 b [1960].

13) T. TAKEMOTO, Yakugaku Kenkyu **32**, 645 [1960], C. A. **55**, 9580 g [1961].

14) M. KURIYAMA, M. TAKAGI und K. MURATA, Nippon Suisan Gakkaishi **26**, 627 [1960], C. A. **55**, 13559 e [1961].



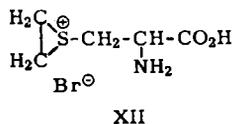
man bei der Gewinnung der Verbindung nach Anreicherung an Austauschharz mit  $1n\text{NH}_3$  eluiert hatte — ein Milieu, das für den Ringschluß von I zu Cycloalliin ausreichend ist<sup>2)</sup>. Die fragliche Vorstufe des aus den Algen isolierten Thiazanderivats sollte demnach das bislang unbekannte *S*-Vinyl-cystein-*S*-oxid (IX) sein.



Beim ersten Darstellungsversuch für IX setzten wir Äthylenbromid und Cystein in  $2n\text{NaOH}$  um, in der Absicht *S*-[2-Brom-äthyl]-cystein (IV) zu erhalten, aus dem nach

HBr-Abspaltung *S*-Vinyl-cystein (VIII) und daraus durch Oxydation das Sulfoxid IX gewonnen werden sollte. Bei dieser Umsetzung entstand jedoch als Hauptprodukt die neue Diamino-dicarbonsäure V, das nächsthöhere Homologe der Djenkolsäure, neben sehr wenig 1.4-Thiazan-carbonsäure-(3) (VI), das von den japanischen Wissenschaftlern aus dem Sulfoxid X der Algen durch Disproportionierung mit 6*n* HCl erhalten wurde<sup>11,13)</sup>.

Dieser zunächst nicht erwartete Reaktionsverlauf läßt sich am besten durch die Annahme eines Nachbargruppeneffekts erklären: Statt des  $\beta$ -Halogen-thioäthers IV wird intermediär das Episulfonium-Ion XII gebildet<sup>15)</sup>, das durch nucleophile Substitution Ringöffnung erleidet. Intermolekulare Substitution durch den Schwefel eines weiteren Cysteinmoleküls führt zu V, der intramolekulare Angriff des Aminostickstoffs hat den Thiazanring VI zur Folge.



Aus VI war durch Oxydation mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Eisessig das aus den Algen isolierte Thiazansulfoxid X in beinahe quantitativer Ausbeute erhältlich. Als Strukturbeweis diente die analog III<sup>9)</sup> erfolgende Spaltung in reduziertes Thiazanderivat VI, Taurin und Cysteinsäure bei 43stdg. Behandlung mit 6*n* HCl bei 105°. Außerdem traten im zweidimensionalen Papierchromatogramm noch drei schwache Flecke auf, bei denen es sich um Cystin, Glycin und ein weiteres sekundäres Spaltprodukt, das nicht näher untersucht wurde, handeln dürfte.

Nach einer Reihe anderer, negativ verlaufener Syntheseversuche gelang die Darstellung von IX schließlich ausgehend von *S*-[1.2-Dichlor-vinyl]-cystein (VII), aus dem durch Reduktion mit Aluminiumamalgam in wäßriger Lösung das polymerisationsempfindliche *S*-Vinyl-cystein (VIII) zugänglich war. Daß bei der Reduktion die Doppelbindung nicht angegriffen wird, geht aus dem UV-Spektrum hervor, das das für Vinyl-thioäther charakteristische Absorptionsmaximum<sup>16)</sup> bei 223 m $\mu$  zeigt. Bei der Behandlung mit Wasserstoffperoxid/Eisessig konnte VIII zu IX oxydiert werden.

*S*-Vinyl-cystein-S-oxid (IX) cyclisiert, wie vermutet, in 1*n* NH<sub>3</sub> zu 1.4-Thiazan-carbonsäure-(3)-1-oxid (X) und ist deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit auch in den Algen als Vorstufe von X vorhanden.

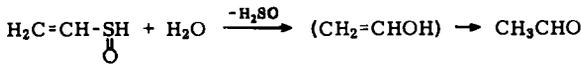
Die bemerkenswerteste Analogie von IX zu *S*-[ $\Delta^1$ -Propenyl]-cystein-S-oxid (I) besteht jedoch in der enzymatischen Spaltung beim Behandeln mit Zwiebelenzym-Präparat, wobei zunächst im Augentest<sup>5)</sup> die Freisetzung von tränentreibender Substanz feststellbar war. Als diese Reaktion wie im Falle von I<sup>5,17)</sup> im Massenspektrographen verfolgt wurde, konnte das zu II homologe Spaltprodukt Vinylsulfensäure (XI) durch das Auftreten des scharfen Peaks der Masse 76 bewiesen werden. Die übrigen Produkte der enzymatischen Spaltung sind wie bei I Brenztraubensäure und Ammoniak (durch Hydrolyse der primär entstehenden Aminoacrylsäure gebildet). Beim Nachweis der Brenztraubensäure wird gleichzeitig Acetaldehyd, das Zersetzungsprodukt von XI, als 2.4-Dinitro-phenylhydrazon gefällt und im Papierchromato-

<sup>15)</sup> K.-D. GUNDERMANN, *Angew. Chem.* **75**, 1194 [1963]; *Angew. Chem. internat. Edit.* **3**, 674 [1964].

<sup>16)</sup> C. C. PRICE und J. ZOMLEFER, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 14 [1950].

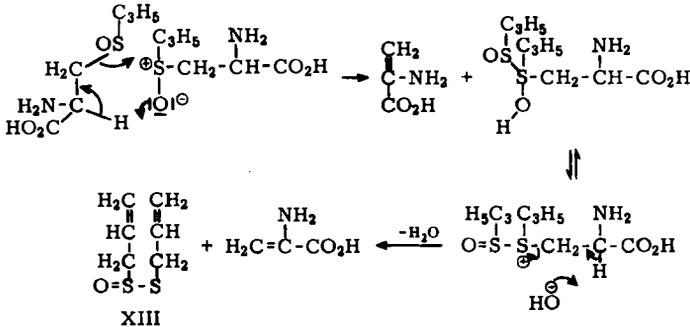
<sup>17)</sup> T. MOISIO, C.-G. SPÄRE und A. I. VIRTANEN, *Suomen Kemistilehti B* **35**, 29 [1962].

gramm sichtbar. Auch das Massenspektrum weist bei der Masse 44 (Acetaldehyd) einen starken Peak auf. Analog ist bei  $\Delta^1$ -Propenylsulfensäure (II) Propionaldehyd ein Hydrolyseprodukt<sup>5)</sup>.



XI

Außer Anthrachinon-sulfensäure-(1)<sup>18)</sup>, die in Substanz dargestellt worden ist, sind II und XI die einzigen weiteren aufgefundenen Sulfensäuren. Möglicherweise ist die Lage der Doppelbindung, die zum konjugierten System  $-\text{C}=\text{C}-\text{S}(\text{H})=\text{O}$  führt, für die kurzzeitige Existenz der aliphatischen Vertreter dieser Verbindungsklasse verantwortlich. Das würde auch erklären, weshalb die bei der enzymatischen Spaltung von *S*-Allyl-cystein-*S*-oxid (Alliin) zu Allicin von A. STOLL und E. SEEBECK<sup>19)</sup> als Zwischenprodukt postulierte Allylsulfensäure massenspektrometrisch nicht nachgewiesen werden konnte<sup>10)</sup>. Entweder ist Allylsulfensäure ein extrem kurzlebiges Zwischenprodukt oder Allicin (XIII) und Aminoacrylsäure gehen unmittelbar durch cyclische Elektronenverschiebung und anschließende  $\beta$ -Eliminierung aus Alliin hervor.



Falls die Algen das Sulfoxid IX enthalten, wird es interessant sein nachzuprüfen, ob sie, wie die Zwiebel, ebenfalls über ein Enzym verfügen, das die Spaltungsreaktion zur Freisetzung der tränentreibenden Substanz auslösen kann.

Die Aufnahme des Massenspektrums verdanken wir Phil. Mag. T. MOISIO. Der eine von uns (E. D.) dankt dem DEUTSCHEN AKADEMISCHEN AUSTAUSCHDIENST für die Gewährung eines Forschungsstipendiums. Die Untersuchungen wurden gleichzeitig zum Teil durch einen Zuschuß des US DEPARTMENT OF AGRICULTURE, AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE, unterstützt.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Schmelzpunkte wurden, wenn nicht anders vermerkt, im zugeschmolzenen Röhrchen bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Mikroanalysen sind von I. BEETZ, Kronach/Ofr. und A. BERNHARDT, Mülheim/Ruhr, ausgeführt. Die UV-Spektren wurden mit dem Beckman Spektralphotometer DK 2 in 50-proz. Äthanol, das Massenspektrum mit dem Massenspektrometer Modell 21-401 der Consolidated Engineering Corporation, Pasadena, California, aufgenommen.

18) K. FRIES, Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 2965 [1912].

19) Helv. chim. Acta **32**, 197 [1949].

Sämtliche Chromatogramme wurden auf Whatman-Papier No. 4 absteigend bei Raumtemp. entwickelt. Als Lösungsmittelsysteme dienten Butanol/Essigsäure/Wasser (12 : 3 : 5) (System A), wassergesätt. Phenol/NH<sub>3</sub>-Atmosphäre (System B), Butanol/Essigsäure/Wasser (4 : 1 : 1) (System C) und 80-proz. Phenol (System D). Alle untersuchten Verbindungen wurden mit Ninhydrin nachgewiesen, die Sulfoxide zusätzlich dem spezifischen Jodwasserstoff/Stärke-Test<sup>20)</sup> unterworfen (Tab.).

Papierchromatographische Charakterisierung der dargestellten Verbindungen in verschiedenen Systemen

Substanz	Färbung mit Ninhydrin	R <sub>F</sub> -Wert in System			
		A	B	C	D
1.4-Thiazan-carbonsäure-(3) (VI)	violett	0.41	0.80	0.43 (Lit. <sup>11)</sup> : 0.38)	0.72 (Lit. <sup>11)</sup> : 0.80)
1.4-Thiazan-carbonsäure-(3)-1-oxid (X)	blaugrün	0.22	0.71	0.18 (Lit. <sup>11)</sup> : 0.15)	0.59 (Lit. <sup>11)</sup> : 0.72)
S-Vinyl-cystein (VIII)	violett	0.49	0.76	0.52	0.61
S-Vinyl-cystein-S-oxid (IX)	bräunlich-violett *)	0.28 0.29	0.52 0.70	0.26 0.30	0.48 0.63
S,S'-Äthylen-bis-cystein	grau-violett	0.13	0.66	0.08	0.16
S-Äthyl-cystein **)	violett	0.52	0.80	0.55	0.67
S-Propyl-cystein **)	violett	0.63	0.81	0.66	0.72
S-Allyl-cystein **)	violett	0.58	0.80	0.60	0.68

\*) Doppelfleck, daher zwei R<sub>F</sub>-Werte.

\*\*) Authentische Proben, zum Vergleich mitbestimmt.

S,S'-Äthylen-bis-cystein („Homo-djenkolsäure“, V) und 1.4-Thiazan-carbonsäure-(3) (VI): 8.78 g Cysteinhydrochlorid · H<sub>2</sub>O (50 mMol) werden unter Stickstoff in 75 ccm 2*n* NaOH (150 mMol) gelöst und unter Kühlung mit 9.39 g 1.2-Dibrom-äthan (50 mMol) versetzt. Durch Zusatz von 100 ccm Äthanol entsteht eine homogene Lösung, die man 38 Stdn. unter gelegentlichem Schütteln bei Raumtemp. beläßt<sup>21)</sup>. Nach dieser Zeit ist mit Nitroprussidnatrium kein Cystein mehr nachweisbar. Die Lösung wird mit konz. Salzsäure kongosauer gemacht, unter vermindertem Druck zur Trockne eingengt und der noch etwas feuchte, farblose Rückstand mit absol. Äthanol im Soxhlet 3 Stdn. extrahiert.

Der *Hülsenrückstand*, der das wasserunlösliche V enthält, wird zur Entfernung der anorganischen Salze in 300 ccm Wasser suspendiert, abgesaugt und gründlich mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen im Vakuumexsikkator (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) erhält man 5.66 g S,S'-Äthylen-bis-cystein (V) (21 mMol = 84 %) als farblosen Gries vom Schmp. 263° (Zers.). Umkristallisieren durch Auflösen in halbkonz. Ammoniak und Fällen mit 6*n* HCl verändert den Schmp. nicht.

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (268.3) Ber. C 35.80 H 6.01 N 10.44 S 23.89

Gef. C 35.93 H 6.03 N 10.51 S 23.66

S 23.72 (gravimetr.)

Der *Alkoholextrakt* wird vom auskristallisierten NaBr durch Filtrieren befreit, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und zur Anreicherung des Thiazanderivats VI durch eine Amberlite-IR-120-Säule geschickt, die 50 ccm Harz (200–400 mesh, H-Form) enthält. Nach

<sup>20)</sup> J. F. THOMPSON, W. N. ARNOLD und C. J. MORRIS, *Nature* [London] 197, 380 [1963].

<sup>21)</sup> A. STOLL und E. SEEBECK, *Helv. chim. Acta* 31, 189 [1948].

Waschen mit 500 ccm Wasser wird mit 150 ccm 1 *n* NH<sub>3</sub> eluiert und die ammoniakalische Lösung i. Vak. auf wenige ccm konzentriert. Durch Fällern mit Aceton erhält man 271 mg VI, das bei papierchromatographischer Prüfung (System A) noch Verunreinigungen zeigt und daher in 1 ccm Butanol/Essigsäure/Wasser (Syst. A) gelöst und auf einer kleinen Cellulose-säule (65 cm × 2 cm) fraktioniert wird. Papierchromatographisch reines VI erscheint in den Fraktionen 15–18 (je 13.6 ccm/30 Min.), die, vereinigt, konzentriert und mit Aceton versetzt, 212 mg 1.4-Thiazan-carbonsäure-(3) (VI) (1.44 mMol; 2.9%) als farbloses Pulver liefern. Schmp. 265.5° (Lit.<sup>11</sup>): 263–265°.

C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>S (147.2) Ber. C 40.81 H 6.16 N 9.52 S 21.78

Gef. C 40.78 H 6.05 N 9.50 S 21.30

1.4-Thiazan-carbonsäure-(3)-1-oxid (X): 58.9 mg VI (0.40 mMol) werden in 1 ccm Eisessig mit 1 ccm einer Lösung von 5.1 ccm 30-proz. Wasserstoffperoxid in 100 ccm Eisessig (17 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 0.5 mMol) versetzt<sup>22</sup>. Nach 5 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wird lyophilisiert, der Rückstand mit 1 ccm H<sub>2</sub>O aufgenommen und mit heißem Aceton gefällt. Nach Trocknung über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Trockenpistole) erhält man 60.0 mg farbloses X (0.37 mMol = 92%), Schmp. 245.5° (Zers.) (Lit.<sup>11</sup>): 248–250°.

C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>S (163.2) Ber. C 36.80 H 5.56 N 8.58 S 19.65

Gef. C 36.98 H 5.68 N 8.66 S 19.12

Disproportionierung von X: 1 mg X wird mit 1 ccm 6 *n* HCl im zugeschmolzenen Rohr 43 Stdn. bei 105° erhitzt<sup>9</sup>. Nach dreimaligem Abdunsten des Chlorwasserstoffs werden die Spaltprodukte durch zweidimensionale Papierchromatographie (1. Syst. A, 2. Syst. B) nachgewiesen.

S-[1.2-Dichlor-vinyl]-cystein, „DCVC“ (VII) wurde nach McKINNEY et al.<sup>23</sup> aus 12.1 g Cystein, 4.8 g Natrium und 13.1 g Trichloräthylen (0.1 molarer Ansatz) in flüss. Ammoniak bereitet. Zur Umkristallisation löste man das Rohprodukt in 850 ccm Wasser von 70° und gab nach Tierkohlebehandlung 1 l Äthanol zu. Die mattseidigen, mikrokristallinen Nadeln von VII wurden in einer Ausb. von 76% (Lit.<sup>23</sup>): 67% erhalten.

S-Vinyl-cystein, „SVC“ (VIII): Bei der Reduktion von VII mit Aluminiumamalgam dienen die Angaben in l. c.<sup>24</sup> zur Orientierung. Die im folgenden beschriebene Darstellungsmethode gibt Bedingungen wieder, die in Reihenversuchen unter Variation von Temperatur, Versuchsdauer und Aufarbeitungsart als optimal ermittelt worden sind.

2.16 g VII (10 mMol) werden in 250 ccm Wasser unter magnetischem Rühren bei 50–55° gelöst. Nach Abkühlen auf 30° trägt man etwa 2 g Al/Hg in Streifen<sup>25</sup> ein und rührt die unter H<sub>2</sub>-Entwicklung reagierende Lösung 30 Min. Zur Beendigung der Reaktion (Endtemp. 35°) wird über Glaswolle rasch von den z. T. zerfallenen Metallstreifen abfiltriert und die Lösung zentrifugiert. Der schlammige, graue Rückstand kann mit 50 ccm Wasser aufgenommen und erneut zentrifugiert werden. Die vereinigten Lösungen werden i. Vak. bei niedriger Temp. auf etwa 50 ccm eingeeengt und sodann lyophilisiert. Das fast farblose, amorphe Reaktionsprodukt enthält papierchromatographisch (System A) neben VIII (R<sub>F</sub> 0.49) noch das rascher wandernde Ausgangsmaterial (R<sub>F</sub> 0.61) und eine unbekannte Substanz von geringerer Wanderungsgeschwindigkeit (R<sub>F</sub> 0.42). Es wird daher in 20 ccm Butanol/Essigsäure/Wasser

<sup>22</sup>) A. STOLL und E. SEEBECK, Helv. chim. Acta **32**, 866 [1949].

<sup>23</sup>) L. L. McKINNEY, J. C. PICKEN JR., F. B. WEAKLEY, A. C. ELDRIDGE, R. E. CAMPBELL, J. C. COWAN und H. E. BIESTER, J. Amer. chem. Soc. **81**, 909 [1959].

<sup>24</sup>) Methoden der organ. Chemie (Houben-Weyl), Bd. V/4, S. 768, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1960 sowie T. I. TEMNIKOWA und Z. A. BASKOWA, J. allg. Chem. (russ.) **21**, 1823 [1951], C. A. **46**, 6584 e [1952].

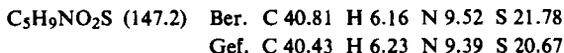
<sup>25</sup>) A. I. VOGEL, Practical Organic Chemistry, 1. Aufl., S. 193, Longmans, Green & Co., London 1948.

(Syst. A) auf eine Cellulosesäule (70 cm × 4.7 cm) gegeben und bei 0–4° fraktioniert. Folgende Fraktionen sind zu unterscheiden (je 15 ccm/30 Min.):

- a) Frakt. 80–91: VII
- b) 92–98: VII (abnehmend) + VIII (zunehmend)
- c) 99–120: VIII (stark) + Substanz mit  $R_F$  0.42 (zu- und wieder abnehmend, relativ schwach)

Frakt. c) wird lyophilisiert und zur Gewinnung von reinem VIII erneut an der gleichen Cellulosesäule ebenfalls in der Kälte aufgetrennt. Die Fraktionen 138–145 (je 12.5 ccm/25 Min.) enthalten reines VIII. In den Fraktionen 146–155 erscheint wieder der mit Ninhydrin schwach bräunlich-violett gefärbte Nebenleck mit  $R_F$  0.42.

Nach Gefriertrocknung der Hauptfraktion werden 277 mg (19%) VIII als fast farbloses, amorphes Pulver erhalten. Auf die Kristallisation muß verzichtet werden, da bei einem früheren Versuch nach Fällung mit Aceton beim Trocknen der Substanz Polymerisation zu einem braunen, glasigen Material eintrat. Aus dem gleichen Grund kann auch der Schmp. nicht ermittelt werden; beim Erhitzen tritt zunehmende Braunfärbung ein, ohne daß ein Schmelzvorgang zu beobachten ist. Die Substanz ist im Dunkeln und in der Kälte aufzubewahren.

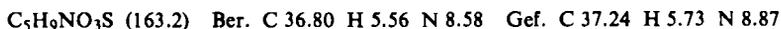


UV-Spektrum (0.14 mmolare Lösung):  $\lambda_{\text{max}}$  223 m $\mu$  ( $\epsilon = 5279$ ).

S-Vinyl-cystein-S-oxid, „SVCSO“ (IX): 74 mg VIII (0.50 mMol) werden in 3 ccm N<sub>2</sub>-gesättigtem Eisessig nach Kühlung in Eiswasser (Kristallisation vermeiden) mit 64  $\mu$ l 30-proz. Wasserstoffperoxid (0.625 mMol) versetzt. Nach 4 Stdn. bei Raumtemp. ist papierchromatographisch (Syst. A) noch etwa die Hälfte des eingesetzten VIII nachweisbar, nach 8 Stdn. ist die Reaktion vollständig. IX erscheint im Papierchromatogramm mit Ninhydrin als eng benachbarter bräunlich-violetter Doppelfleck. Die Prüfung auf Sulfoxid mit Jodwasserstoff/Stärke<sup>20</sup>) ist für beide Flecke positiv. Vermutlich handelt es sich um die optischen Antipoden, die sich hinsichtlich ihrer Wanderungsgeschwindigkeit im System A nur geringfügig unterscheiden.

Zur Entfernung von noch enthaltenen Verunreinigungen, die wie Cystin wandern (Syst. A), wird der nach der Gefriertrocknung erhaltene Rückstand im Syst. A auf einer Cellulosesäule (44 cm × 1.4 cm) aufgetrennt. Die Fraktionen 26–34 (je 3 ccm/30 Min.), die reines IX enthalten, werden vereinigt, i. Vak. schonend bis auf etwa 5 ccm eingengt und nach Zusatz von 10 ccm Wasser erneut konzentriert. Das „Nachkonzentrieren“, das der weitgehenden Entfernung der Essigsäure dient, wird noch einmal wiederholt. Das letzte Konzentrat lyophilisiert man und erhält 60.9 mg (75%) IX als blaßgelbe Substanz.

Die Substanz, die sich bei der Schmp.-Bestimmung (Kofler-Mikroheiztisch) ab 80° zunehmend braun färbt, zeigt bei 158–160° einen wegen gleichzeitiger Schwarzfärbung undeutlich wahrnehmbaren Schmelzpunkt. Das UV-Spektrum weist ein sehr flaches Maximum bei 227–229 m $\mu$  auf.



#### Reaktionen des S-Vinyl-cystein-S-oxids (IX)

**Cyclisierung zu X:** Von einer Lösung aus 1 mg IX in 1 ccm 1 N NH<sub>3</sub> werden sofort nach Bereitung, ferner nach 15, 30 und 60 Min. und weiterhin stündlich 60- $\mu$ g-Proben papierchromatographisch geprüft. Bereits nach 15 Min. tritt im Chromatogramm neben IX der charakteristisch blaugrüne Fleck der cyclischen Verbindung X auf. Dessen Intensität erreicht nach 3 Stdn. die des Ausgangsmaterials, das nach 24 Stdn. nur noch in Spuren vorhanden ist.

*Enzymatische Spaltung*

a) *Brenztraubensäure* und *Acetaldehyd* werden nach Spaltung von 2.0 mg IX mit 20 mg *Zwiebelenzym*, wie früher beschrieben<sup>5,26)</sup>, als 2.4-Dinitro-phenylhydrazone durch papierchromatographischen Vergleich mit authent. Proben nachgewiesen.

b) *Ammoniak*: 2.0 mg IX (0.012 mMol) und 20 mg *Zwiebelenzym* werden mit etwa 25 ccm Wasser in eine abgeschlossene PARNAS-WAGNER-Apparatur<sup>27)</sup> gespült, das gebildete *Ammoniak* nach 17 Stdn. durch Destillation in einer 2-proz. Borsäurelösung aufgefangen und potentiometrisch (Beckman Zeromatic pH-Meter) titriert. Verbrauch 0.70 ccm 0.01 *n* HCl (nach Abzug des Blindwerts mit Enzym), entspr. 0.119 mg NH<sub>3</sub> (57%). Auch bei der Bestimmung in der CONWAY-Kammer<sup>28)</sup> (Deckel mit Loch versehen, durch das die Wasserzugabe zur Auslösung der Enzymreaktion mittels Injektionsspritze erfolgt) findet man nur 58% NH<sub>3</sub> (Einwaage 1.82 mg IX (0.011 mMol); Verbrauch 0.64 ccm 0.01 *n* HCl nach Abzug des Blindwerts).

c) *Vinylsulfensäure (XI)* wird massenspektrometrisch 5 Min. nach Freisetzung aus 1 mg IX mit 5 mg *Zwiebelenzym* in der gleichen, wie für III beschriebenen<sup>5)</sup>, Versuchsanordnung nachgewiesen.

26) C.-G. SPÄRE und A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. **15**, 1283 [1961].

27) N. H. FURMAN, Standard Methods of Chemical Analysis, 6. Aufl., Bd. I, S. 743, D. van Nostrand Company, Inc., Princeton N. J. 1963.

28) E. J. CONWAY und E. O'MALLEY, Biochem. J. [London] **36**, 655 [1942].