

Short Communications

Synthese von S-(Buten-1-yl)-L-cystein-sulfoxid und die enzymatische Spaltung desselben zu 1-Butenylsulfensäure

ASMUS L. MÜLLER und
ARTTURI I. VIRTANEN

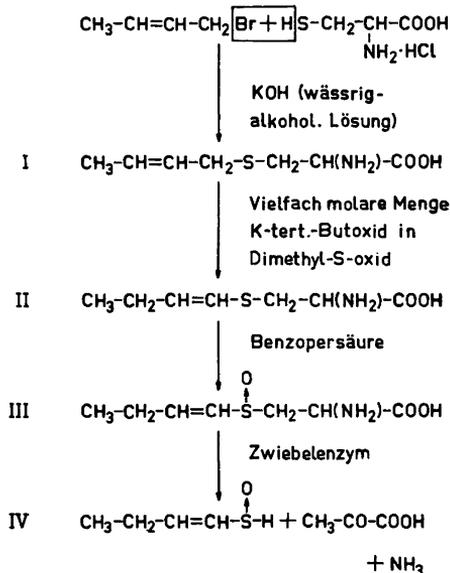
Laboratorium der Stiftung für chemische
Forschung, Biochemisches Forschungs-
institut, Helsinki, Finnland

Vor einigen Jahren wurde in diesem Laboratorium der Precursor der tränen-treibenden Substanz der Zwiebel (*Allium cepa*), S-(Propen-1-yl)-L-cystein-sulfoxid (LP), isoliert und identifiziert.^{1,2} Später konnte ein niederes Homologes des LP, S-Vinyl-L-cystein-sulfoxid, von Däbritz und Virtanen^{3,4} synthetisiert werden. Beide Sulfoxide werden durch Zwiebelenzym-Präparat („Alliinase“) gespalten, wobei neben NH₃ und Brenztraubensäure, die tränen-treibenden Substanzen Propenyl- bzw. Vinylsulfensäure entstehen.

Über die Synthese und die Reaktionen eines höheren Homologen des LP, S-(Buten-1-yl)-L-cystein-sulfoxid, soll hier berichtet werden. Nach den Vorarbeiten von Stoll und Seebeck⁵ zur Synthese des Alliins und Carson und Wong⁶ zur Synthese des LP, schien der Syntheseweg für S-(Buten-1-yl)-L-cystein-sulfoxid klar vorgezeichnet zu sein: Kondensation von Crotylbromid mit L-Cystein-Hydrochlorid zu S-Crotyl-L-cystein (I), Umlagerung von I mit 1 Äquivalent K-tert. Butoxid in Dimethylformanid (DMF) oder Dimethylsulfoxid (DMSO) zu S-(Buten-1-yl)-L-cystein (II) und Oxydation von II zu S-(Buten-1-yl)-L-cystein-sulfoxid (III).

Die Synthese von I gelang ohne Schwierigkeiten. Versuche, I in DMF mit K-tert. Butoxid zu II umzulagern, scheiterten.

Syntheseweg:



Wurde I mit K-tert. Butoxid in DMSO behandelt, so fand man papierchromatographisch ca. 30% Isomerisierung. Es konnte keine Methode gefunden werden, die Isomeren I und II in präparativem Masstab zu trennen. Als zusätzliche Schwierigkeit wurde eine teilweise rückläufige Isomerisierung von II zu I während des Aufarbeitens beobachtet. Da das nach Oxydation des Isomerengemisches erhaltene Produkt mit Zwiebelenzym-Präparat eine tränen-treibende Substanz freisetzte, wurden die Versuche fortgeführt und konnten jetzt erfolgreich abgeschlossen werden.

Crotylbromid und L-Cystein-Hydrochlorid werden mit wässrig-alkoholischem KOH zu S-Crotyl-L-cystein (I) kondensiert.

17,56 g (10^{-1} Mol) L-(+)-Cysteinhydrochlorid·H₂O und 23 g ($3,5 \times 10^{-1}$ Mol) KOH-Plätzchen (Gehalt 86 %) werden unter N₂ in 120 ml Wasser gelöst. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur gibt man in einem Guss 14,5 g ($1,07 \times 10^{-1}$ Mol) Crotylbromid in 300 ml Äthanol dazu und lässt nach dem Schütteln 1-2 Stdn. im verschlossenen Kolben stehen. Das Reaktionsgemisch wird auf eine Säule mit 230 ml Harz IR 120 (H⁺-Form) gegeben, mit 2 Liter dest. Wasser gewaschen und die Aminosäure mit 2 N NH₄OH eluiert. Das Eluat wird am Rotationsverdampfer bei ca. 40°C Badtemperatur eingedampft. Das trockene Rohprodukt ca. 15 g, gleich 86 % der Theorie.

Nach Umkristallisieren aus heissem 50 %igem Äthanol erhält man 7,2 g (41 % der Theorie) S-Crotyl-L-cystein als fettglänzende Schuppen vom F.p. 204°C (Zersetzung). (Anal. gef.: C 46,89, H 7,48, S 18,40, N 7,83, ber. für C₇H₁₃O₂SN: C 47,96, H 7,45, S 18,31, N 8,17.) Durch Einengen der Mutterlauge wird die Ausbeute verbessert. Das NMR-Spektrum von I in D₂O/NaOD beweist die angenommene Struktur der Verbindung.

I wird mit der 8-fach molaren Menge K-tert. Butoxid in DMSO erwärmt und lagert sich dabei zu S-(Buten-1-yl)-L-cystein (II) um.

In einem mit trockenem N₂ gespülten Kolben suspendiert man 1,75 g (10^{-2} Mol) trockenes I und 7,85 g (7×10^{-2} Mol) frisch sublimiertes K-tert. Butoxid¹³ in 160 ml über Sikkon getrocknetem DMSO. Der Kolben wird verschlossen und der Reaktionsansatz 30 Min lang unter Rühren auf 70°C erwärmt. Anschliessend wird so weit abgekühlt, dass das DMSO noch nicht erstarrt. Es ist auf strengen Ausschluss von Feuchtigkeit zu achten, da die Isomerisierung von C=C selbst durch kleine Mengen tert.-Butanol stark erniedrigt wird.⁷ Unter guter Aussenkühlung und Umschütteln gibt man tropfenweise 10 ml ca. 10 N H₂SO₄ und dann in einem Guss 150 ml Wasser zu. Das Reaktionsgemisch soll jetzt schwach sauer (ca. pH 5) reagieren. Nach 10–20 Min filtriert man das auskristallisierte K₂SO₄ ab. Das Filtrat wird im Kühlraum auf eine Säule mit 55 ml Harz IR 120 (H⁺-Form) gegeben. Man entfernt alles DMSO mit 50 %igem Äthanol. Nach der Entfernung des Alkohols mit dest. Wasser werden die Aminosäuren mit 2 N NH₄OH eluiert. Das Eluat wird bei maximal 40°C am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Das Produkt enthält II sehr stark mit Alanin verunreinigt. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus siedendem 50 %igem Äthanol erhält man 387 mg (22 % der Theorie) S-(Buten-1-yl)-L-cystein

vom F.p. 199°C (Zersetzung) in Form weisser fettglänzender Schuppen.

Das umkristallisierte Präparat ist papierchromatographisch rein. (Anal. gef.: C 48,08 H 7,65, S 18,32, N 7,63, ber. für C₇H₁₃O₂SN: C 47,96, H 7,45, S 18,31, N 8,17.) Es wurde ein NMR-Spektrum von II gelöst in D₂O/NaOD aufgenommen. Dabei wurden neben S-(Buten-1-yl)-L-cystein auch etwa 20 % S-Crotyl-L-cystein gefunden. Es ist anzunehmen, dass das in der alkalischen Probelösung gefundene I durch eine „Re-Isomerisierung“ von II entstanden war.

II läuft im absteigenden Chromatogramm auf Whatman 4(BuOH/H₂O/HAc 12:5:3) nur geringfügig schneller als I. Man kann die Isomeren aber auf dem mit Ninhydrin behandelten Chromatogramm leicht unterscheiden, da I rotviolett und II blauviolett gefärbt wird. Das UV-Spektrum von II in 50 % Äthanol wurde aufgenommen. Man findet ein flaches Maximum bei 223 mμ und eine Schulter bei 241 mμ. Das Spektrum von II entspricht damit weitgehend dem von S-(Propen-1-yl)-L-cystein (flaches Maximum bei 219 mμ, Schulter bei 239 mμ). Die dazu isomeren Verbindungen S-Allyl- und S-Crotylcystein zeigen in diesem Bereich keine Absorption.

Wird II mit Benzopersäure oxydiert, so erhält man, bei Einhaltung gewisser Vorsichtsmassnahmen zur Vermeidung einer Epoxidierung, S-(Buten-1-yl)-L-cystein-sulfoxid (III).

In einem möglichst lichtundurchlässigen Kolben werden 376 mg ($2,14 \times 10^{-3}$ Mol) II in 120 ml 50 %igem Äthanol auf –10°C abgekühlt. Zu dieser Lösung werden unter Aussenkühlung und Rühren $4,28 \times 10^{-3}$ Mol Benzopersäure⁸ in 4,5 ml Chloroform, verdünnt mit 50 ml Äther, innerhalb von 15 Min langsam zugegropft. Dann entfernt man die Kühlung und lässt den Ansatz sich auf Zimmertemperatur erwärmen. Anschliessend wird das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer bei 20 bis 35°C zur Trockene eingedampft. Den Rückstand löst man in 100 ml destilliertem Wasser und schüttelt viermal mit insgesamt 500 ml Äther aus, um die Benzoesäure zu entfernen. Die wässrige Schicht wird am Rotationsverdampfer bei maximal 35°C zur Trockene gebracht. Das so erhaltene weisse S-(Buten-1-yl)-L-cystein-sulfoxid hatte einen F.p. 135 bis 140°C (Zersetzung). Ausbeute: 306 mg, entsprechend 75 % der Theorie. Wegen der Empfindlichkeit der Substanz wurde auf eine Umkristallisation verzichtet.

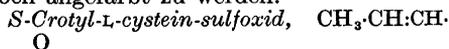
Tabelle 1. Papierchromatographische Charakterisierung der neuen Substanzen. Lösungsmittelsystem: Butanol/Essigsäure/Wasser 12:3:5; absteigende Chromatogramme auf Whatman IV bei Zimmertemperatur.

Substanz	Färbung mit Ninhydrin	R_F -Werte
Glutaminsäure*		0.35
Alanin*		0.41
Valin*		0.60
S-Crotyl-L-Cystein	rot-violett	0.77
S-(Buten-1-yl)-L-cystein	blau-violett	0.81
S-Crotyl-L-cystein-sulfoxid	rosa/schwach-violett	0.58
S-(Buten-1-yl)-L-cystein-sulfoxid**	rosa/schwach-violett	I) 0.56; II) 0.63

* Reine Präparate, zum Vergleich mitbestimmt.

** Doppelfleck, deshalb zwei R_F -Werte. S. Däbritz u. Virtanen.⁴

Auf dem absteigenden Chromatogramm auf Whatman 4 (BuOH/H₂O/HAc 12:5:3) spaltet III in 2 Flecke etwas verschiedener Grösse auf. Mit Ninhydrin färben sie sich blass-rosa bis schwach violett. Wird III mit NH₄OH behandelt, so findet man auf dem Chromatogramm keinen Fleck, der die typisch blaugrüne Farbe des Cycloalliins² bzw. Norcycloalliins⁴ hätte. Es wird auf sterische Einflüsse zurückzuführen sein, dass, unter sonst identischen Bedingungen, S-Vinylcystein-sulfoxid vollständig zu Norcycloalliin und S-Propenylcystein-sulfoxid noch zu 30 bis 50 % zu Cycloalliin cyclisiert werden, wohingegen aus S-Butenylcystein-sulfoxid kleine oder jedenfalls zu wenig Cycloverbindungen entstehen, um auf dem Chromatogramm noch angefärbt zu werden.



↑
CH₂S-CH₂-CH(NH₂)-COOH (V): Wird I mit Benzopersäure oxydiert wie II, so entsteht V vom F.p. 150–153°C. Bei der Einwirkung von Zwiebelpräparat setzt V erwartungsgemäss keine tränentreibende Substanz frei.

1-Butenylsulfensäure (IV): Bei der Einwirkung von Zwiebelenzym auf III entsteht 1-Butenylsulfensäure (IV). IV wird im Augentest im Vergleich zu Propenylsulfensäure als stechender empfunden.

Im Massenspektrum² ist der höchste Molekülpeak bei Masse 104. Der Peak ist

nicht sehr intensiv. Bei der, gegenüber Vinyl- und Propenylsulfensäure, geringeren Flüchtigkeit von IV macht sich das Wasser der Enzymlösung besonders störend bemerkbar.

Die massenspektrometrischen Bestimmungen verdanken wir Phil.Mag. T. Moiso und die NMR-Spektren und ihre Deutung Dr. J. Paasivirta.

Diese Untersuchung wurde zum Teil durch einen Zuschuss des *U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service*, unterstützt.

1. Virtanen, A. I. und Späre, C.-G. *Suomen Kemistilehti* **B 34** (1961) 72.
2. Späre, C.-G. und Virtanen, A. I. *Acta Chem. Scand.* **17** (1963) 641.
3. Däbritz, E. und Virtanen, A.I. *Acta Chem. Scand.* **18** (1964) 837.
4. Däbritz, E. und Virtanen, A. I. *Chem. Ber.* **98** (1965) 781.
5. Stoll, A. und Seebeck, E. *Advan. Enzymol.* **11** (1951) 377.
6. Carson, J. F. und Wong, F. F. *Chem. Ind. (London)* **1963** 1764.
7. Schriesheim, A. und Rowe, Jr., C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **84** (1962) 3160.
8. *Org. Syn. Coll. Vol. I* (1946) 431.

Eingegangen am 8. Februar 1966.