

H. Möhrle*) und G. Hempel

Die Bestimmung organischer Sulfide

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin
(Eingegangen am 4. Januar 1973)

Die quantitative Bestimmung organischer Sulfide gelingt mit Perjodat unter Bildung von Sulfoxiden. Bei Mercaptoverbindungen, die in α -Stellung eine Hydroxy- oder Aminogruppe tragen, erfolgt keine glykolanaloge Spaltung, sondern die Oxidation zur Sulfonsäure.

The Determination of Organic Sulfides

The quantitative determination of sulfides is possible by periodate oxidation to the sulfoxides. With mercapto compounds bearing a hydroxy or amine group in α -position, no glycol analogous splitting takes place, but the oxidation to the sulfonic acid.

Leonard und Johnson¹⁾ verwandten Natriummetaperjodat zur spezifischen Oxidation von organischen Sulfiden zu Sulfoxiden. Unter kontrollierten Bedingungen verläuft die Reaktion praktisch quantitativ. Prinzipiell kann die Umsetzung mit Natriummetaperjodat bis zum Sulfon führen, jedoch verläuft die Oxidation zum Sulfoxid sehr rasch, die Weiteroxidation zum Sulfon außerordentlich langsam.

Bisherige Versuche, diese Methode zur analytischen Bestimmung von organischen Sulfiden zu verwenden, sind in Einzelfällen mit Erfolg durchgeführt worden^{2,3)}. An einer Reihe von Modellsulfiden sollte daher untersucht werden, ob und inwieweit für verschiedene Sulfidtypen eine allgemeine Vorschrift gefunden werden konnte.

Als Modellsubstanzen wurden folgende organische Sulfide in Konzentrationen von 10^{-3} und 10^{-2} Mol/l zur Perjodatoxidation eingesetzt. Dabei betrug der Überschuß an NaJO_4 etwa 5 Mol.

2,2'-Thiodiäthanol	(I)	3-Hydroxy-thian	(V)
2,2'-Thiobisacetamid	(II)	3-Thiomorpholinon	(VI)
L-N-Acetylmethionin	(III)	d-Biotin	(VII)
1,4-Oxthian	(IV)		

*) Herrn Professor Dr. O. Dann zum 60. Geburtstag gewidmet

1) N.J. Leonard und C.R. Johnson, J.org.Chemistry 27, 282 (1962)

2) H. Möhrle, Dtsch. Apotheker-Ztg. 107, 781 (1967)

3) H. Möhrle und G. Luther, Dtsch. Apotheker-Ztg. 111, 1486 (1971)

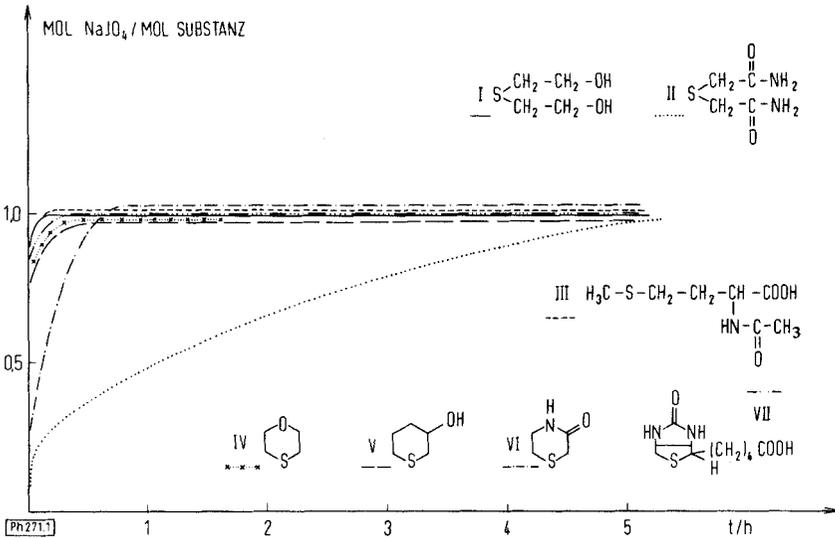


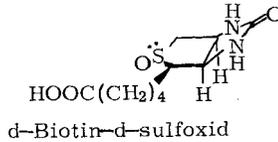
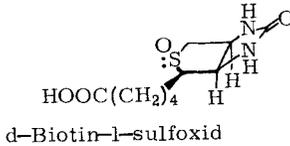
Abb. 1: Perjodatoxidation von organischen Sulfiden

Der Oxidationsverlauf wurde in Abhängigkeit zur Zeit beobachtet und ist in Abb. 1 aufgezeichnet. Mit Ausnahme von 2,2'-Thiobisacetamid nahmen alle Sulfoxide in den ersten 30 Min. 1 Mol Perjodat auf. Der Verbrauch blieb dann über lange Zeit konstant. Bei 2,2'-Thiobisacetamid verlief die Oxidation sehr langsam, eine Sättigung bei 1 Mol wurde erst nach 6 Std. erreicht.

In jedem Fall lag das Sulfoxid als Oxidationsprodukt vor. Aus den Titrationsansätzen wurden die Sulfoxide direkt isoliert, wenn sie mit einem organischen Lösungsmittel vom gebildeten Natriumjodat abgetrennt werden konnten. Bestand diese Möglichkeit nicht, so wurden die zu erwartenden Sulfoxide auf präparativem Wege dargestellt und mit den lyophilisierten Titrationsansätzen im DC verglichen.

Dabei war meist für jede Modellsubstanz ein anderes Fließmittelsystem erforderlich. Zur Detektion wurde Jod verwendet, das nach längerer Einwirkungszeit auch das Sulfoxid gelb anfärbte. Für d-Biotin, 3-Thiomorpholinon und entsprechende N-haltige Sulfoxide eignete sich Jodplateatlösung. Die Sulfide erschienen als weiße, die Sulfoxide als dunkelviolette Flecke auf rosa Untergrund.

Auch bei d-Biotin verlief die Oxidation rasch und quantitativ. Das DC zeigte 2 Flecke, die etwas ineinander verliefen. Als Oxidationsprodukte liegen 2 diastereoisomere Sulfoxide vor, die sich durch die räumliche Anordnung des Sauerstoffatoms am Schwefel unterscheiden.



Zum Vergleich wurden diese nach Melville ⁴⁾ durch Oxidation mit Wasserstoffperoxid unter kontrollierten Bedingungen präparativ dargestellt und auf Grund ihrer verschiedenen Kristallisierbarkeit getrennt. Sie unterscheiden sich durch ihre Schmp. und Rf-Werte.

Bei der Perjodatoxidation entstanden offensichtlich auch beide Diastereoisomere im Titrationsansatz. Zur eindeutigen Identifizierung wurde die Trennung versucht. Bei der Soxhlet-Extraktion mit absolutem Äthanol wurde zunächst vom Natriumjodat abgetrennt. Schon während der Extraktion fiel das l-Sulfoxid aus, das d-Sulfoxid blieb in Lösung.

Getrennt aufgetragen konnten nun im DC beide Sulfoxide identifiziert werden. Der Intensität der Flecke nach, ist die Bildung des d-Biotin-d-sulfoxids begünstigt. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit Untersuchungen von Lett und Marquet ⁵⁾, die feststellten, daß unter „steric approach control“ auch bei der Perjodatoxidation vorwiegend das weniger stabile Sulfoxid ⁶⁾ entsteht.

Untersuchungen zur Spezifität der Perjodatoxidation

Über die Perjodatoxidation von Schwefelverbindungen verschiedener Konstitution ist relativ wenig bekannt. Bei Thioglykosiden ⁷⁾⁸⁾⁹⁾ und Thioacetalen ¹⁰⁾ wurde eine Schwefeloxidation erwähnt, aber nicht eingehend untersucht. Es wurde angenommen, daß bei α -Hydroxy- β -thioalkyl-Strukturen eine C-C-Spaltung auftritt.

Interessant war es daher, an thioanalogen Glykolen die Perjodatwirkung auf den Schwefel zu untersuchen, zumal die von den zitierten Autoren angenommene „Glykolspaltung“ fraglich erschien.

3-Mercapto-1, 2-propandiol wurde in Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-3}$ Mol der Perjodatoxidation unterworfen. In ungepufferter Lösung erfolgte in den ersten 30 Min. die Aufnahme von 3,5 Mol NaJO_4 rasch und stieg innerhalb von 3 Std. auf 4 Mol an. In den folgenden Std. war ein nur un-

4) D.B. Melville, J. *biol. Chemistry* **208**, 495 (1954)

5) R. Lett und A. Marquet, *Tetrahedron Letters* (London) **1971**, 2851 und 2855

6) H. Ruis, D.B. Mc Cormick und L.D. Wright, *J. org. Chemistry* **32**, 2010 (1967)

7) S. Okui, *J. pharmac. Soc. Japan* **75**, 1262 (1955)

8) B.H. Nicolet und L.A. Shinn, *J. Amer. chem. Soc.* **61**, 1615 (1939)

9) W.A. Bonner und R.W. Drisko, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 3699 (1951)

10) L. Hough und M.I. Taha, *J. chem. Soc. (London)* **1956**, 2042

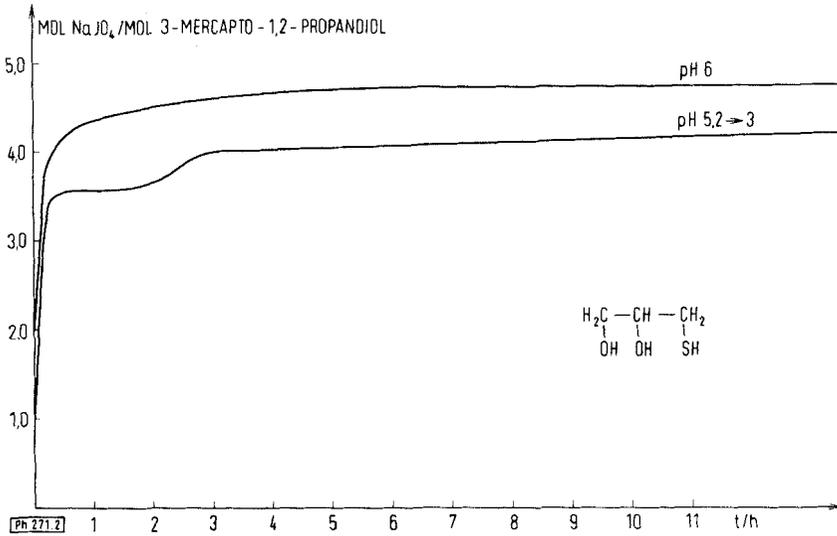
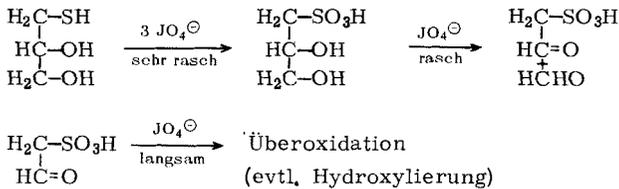


Abb. 2: Perjodatoxidation von 3-Mercapto-1,2-propandiol

wesentlicher Anstieg zu beobachten. Während der Reaktion sank der pH-Wert durch Säurebildung auf 3. In natriumacetatpufferter Lösung waren bereits nach 30 Min. 4 Mol überschritten, der Verbrauch näherte sich kontinuierlich 4,75 Mol.



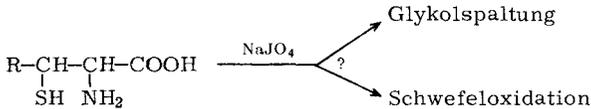
Die Schwefeloxidation verläuft sehr rasch unter Aufnahme von 3 Mol Perjodat¹¹⁾. Dabei entsteht die Sulfonsäure. Für die gleichzeitig ablaufende normale Glykolspaltung ist ein weiteres Mol NaJO₄ erforderlich. Während in saurer Lösung die Oxidationsprodukte relativ stabil sind und der Perjodatverbrauch von 4 Mol nahezu konstant bleibt, steigt er in neutraler Lösung langsam an. Auf Grund der gleichzeitigen Anwesenheit von Carbonyl- und Sulfonsäurefunktion ist eine Aktivierung der mittelständigen Methylengruppe anzunehmen. Die sich anschließende Hydroxylierung¹²⁾ erfolgt unter weiterem Perjodatverbrauch sehr langsam.

11) G. Luther, Dissertation Tübingen 1971

12) C.F. Huebner, S.R. Ames und E.C. Bubl, J.Amer.chem.Soc. 68, 1621 (1946)

Bei α -Aminosäuren erfolgt nach Clamp und Hough¹³⁾ der Umsatz mit Perjodat unter normalen Bedingungen außerordentlich langsam. Dagegen werden β -Hydroxy- α -aminosäuren sehr rasch oxidiert. Nicolet und Shinn¹⁴⁾ zeigten an Serin und Threonin, daß deren quantitative Bestimmung mit Perjodat im Gemisch mit anderen α -Aminosäuren auf Grund der unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeit möglich ist.

Auch bei Cystin und Methionin fanden sie die Oxidation beschleunigt. Dabei hatte man aber nicht untersucht, ob eine C-C-Spaltung, eine Oxidation am Schwefel oder beides erfolgte.



Deshalb sollte hier das Verhalten von β -Mercapto- α -aminosäuren gegenüber Natriummetaperjodat studiert werden. In Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-3}$ Mol wurden in verschiedenen pH-Bereichen β -Mercapto- α -aminosäuren, deren Ester oder Acetylderivate mit Perjodatlösung oxidiert und der Verlauf der Umsetzung im Reaktions-Zeit-Diagramm und im DC beobachtet.

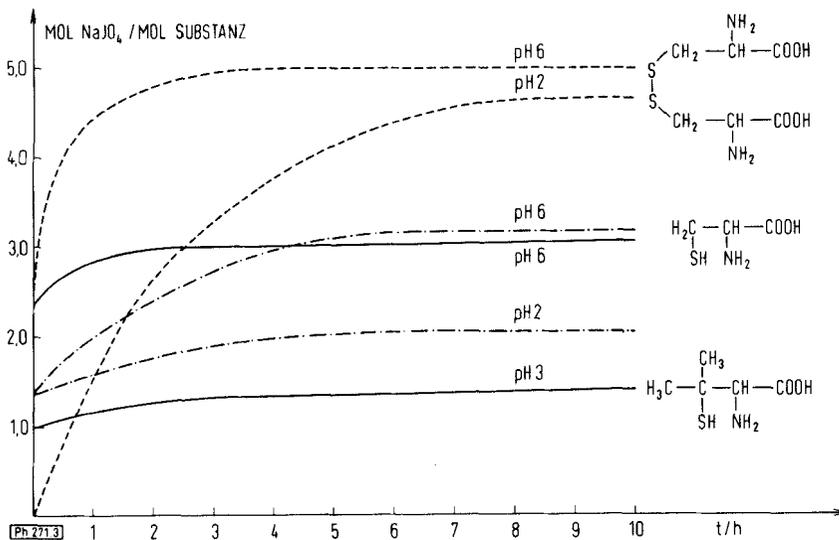


Abb. 3: Perjodatoxidation von L-Cystein, L-Cystin und D-Penicillamin

13) J.R. Clamp und L. Hough, *Biochem. J.* **94**, 97 (1965)

14) B.H. Nicolet und L.A. Shinn, *J.biol.Chemistry* **142**, 139 (1942)

Setzte man zur Oxidation L-Cystein als Hydrochlorid ein, so blieb nach allmählichem Anstieg auf 2 Mol der Verbrauch über 7 Std. konstant. In gepufferter, neutraler Lösung waren 3 Mol schon nach 4,5 Std. erreicht. Ein minimaler Überwert, von 0,35 Mol der in den folgenden Std. beobachtet wurde, war vermutlich auf die Konkurrenzreaktion zurückzuführen, die bei α -Aminosäuren generell, aber außerordentlich langsam verläuft. In den sauren und neutralen Titrationsansätzen konnte Cysteinsäure als Oxidationsprodukt durch DC nachgewiesen werden.

Bei der Oxidation von L-Cystin entstand unter Aufnahme von 5 Mol Perjodat ebenfalls die Cysteinsäure als Oxidationsprodukt. Während in neutraler Lösung die Reaktion nach 4 Std. zum Stillstand kam, war in saurer Lösung die Reaktion deutlich verzögert.

Sehr viel rascher als bei L-Cystein verlief die Reaktion bei D-Penicillamin. Innerhalb von 15 Min. wurden bei pH 6 nahezu 3 Mol aufgenommen und der Wert blieb konstant über 8 Std.. Im sauren Medium erfolgte rasche Aufnahme von 1 Mol und es trat eine Sättigung ein; nur minimal stieg der Wert in weiteren 8 Std. auf 1,4 und in 24 Std. auf 1,5 Mol.

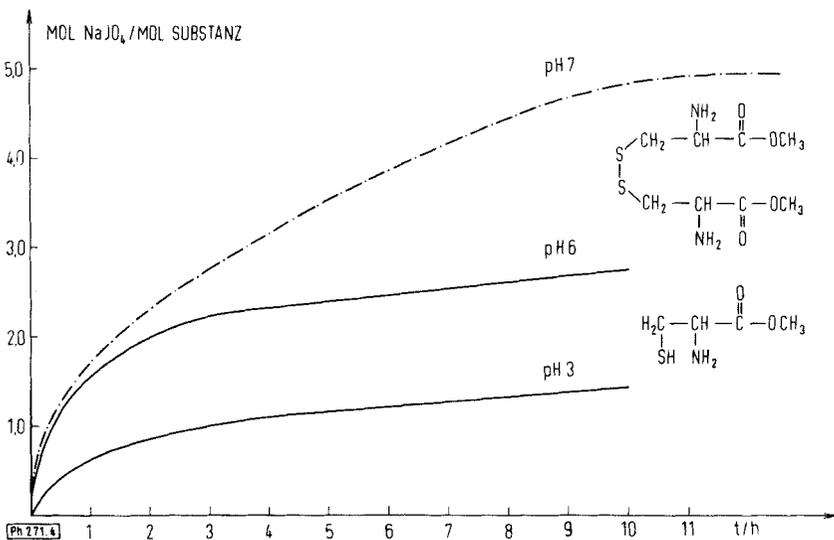


Abb. 4: Perjodatoxidation der L-Cystein- und L-Cystinester

Bei den Estern von L-Cystein und L-Cystin trat eine auffallende Verzögerung der Reaktion ein.

Methyl- und Äthylester von L-Cystein verhielten sich bei der Titration gleich. In saurer Lösung bei pH 3 stieg der Perjodatverbrauch kontinuierlich in 15 Std. auf 1,7

Mol an. Etwas steiler verlief die Reaktions-Zeit-Kurve bei pH 6. 3 Mol wurden nach 15 Std. erreicht.

Der L-Cystin-dimethylester wurde innerhalb von 15 Std. quantitativ oxidiert und verbrauchte 5 Mol NaJO_4 . Die Oxidationsprodukte von L-Cystein-methylester und L-Cystin-dimethyl-ester waren im DC identisch.

Die auffallenden Unterschiede zwischen den Reaktionsgeschwindigkeiten der β -Mercapto- α -aminosäuren und deren Ester ließen erkennen, daß offensichtlich die „freie“ Carboxylfunktion in β -Stellung zur Thiolgruppe großen Einfluß ausübte. Grundsätzlich verzögert und unvollständig verlief die Oxidation im sauren Medium.

Bei Ringgrößenbestimmungen an Aminozuckern mit Perjodat hatten Neuberger¹⁵⁾, Hough und Taha¹⁰⁾ festgestellt, daß sich β -Hydroxy- α -acetamido-Strukturen relativ stabil gegenüber Perjodat verhielten. Gleiche Beobachtungen machten Nicolet und Shinn⁸⁾ bei N-acetyliertem Serin.

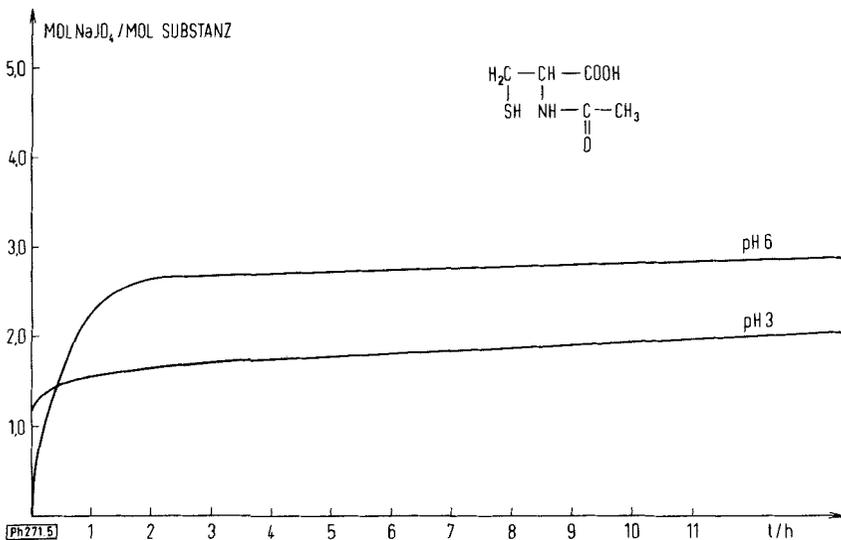


Abb. 5: Perjodatoxidation von N-Acetyl-L-cystein

Als mercaptoanaloge Verbindung wurde N-Acetyl-L-cystein zu den Perjodatstudien eingesetzt. In saurer Lösung wurde ein langsamer Anstieg auf 2 Mol in 11 Std., bei pH 6 rasche Aufnahme von 2,67 Mol innerhalb 3 Std. und Sättigung bei 2,8 Mol beobachtet. Das DC zeigte bei beiden Ansätzen das gleiche Oxidationsprodukt.

15) A. Neuberger, J.chem.Soc. (London) 1941, 47

Die Perjodat-Oxidation ergab also bei den eingesetzten *Sulfiden*:

1. In den angegebenen Konzentrationsbereichen konnten alle Sulfide quantitativ erfaßt werden.
2. Eine allgemeine Vorschrift zur analytischen Bestimmung war bei einer Reaktionszeit von 1 Std. möglich mit Ausnahme von 2,2'-Thiobisacetamid.
3. Als Oxidationsprodukte lagen ausschließlich Sulfoxide vor.

Bei vicinalen *Mercaptoalkoholen* bzw. *-aminen* wurden folgende Ergebnisse festgestellt:

1. Bei der Oxidation mit Natriummetaperjodat trat keine C-C-Spaltung ein.
2. Die Thiofunktion wurde in natriumacetatgepufferter Lösung quantitativ zur Sulfonsäure oxidiert.
3. Die Reaktionsgeschwindigkeit war bei β -Mercapto- α -aminoverbindungen mit freier Carboxylgruppe beschleunigt. Vermutlich handelt es sich um einen Nachbargruppeneffekt des Carboxylations.
4. Die Oxidation war, da sie über den Schwefel verlief, bei acetylierter Aminfunktion *nicht* verhindert im Gegensatz zu den Beobachtungen bei α -Acetamido- β -hydroxy-Strukturen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds Chemie danken wir für die Unterstützung unserer Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Dünnschichtchromatographie

Sorbens: Kieselgel HF₂₅₄; Schichtdicke 0,25 mm; Aktivierung 110°/ 1 Std.

Fließmittel:

- | | |
|---|-------------|
| 1) n-Propanol/H ₂ O/Eisessig | 70+30+2 |
| 2) n-Propanol/H ₂ O | 70+30 |
| 3) Petroläther (50 – 70°)/Chloroform | 50+50 |
| 4) Ligroin/Chloroform/Aceton/Methanol | 20+50+20+10 |
| 5) Benzol/Methanol/Aceton/Eisessig | 70+20+5+5 |
| 6) n-Propanol | |

Detektion: 1) Joddampf 2) Jodplateat 3) Ninhydrin-Kupfernitrat nach Brenner

DC der Oxidation von β -Mercapto- α -aminoverbindungen

Die Titrationsansätze wurden in Zeitabständen von 1, 3, 5, 7 und 24 Std. auf Kieselgel₂₅₄-Fertigplatten aufgetragen, in n-Propanol-Wasser (70:30;v:v) entwickelt und die Substanzen mit Ninhydrin-Kupfernitrat-Reagens sichtbar gemacht. Neben den oxidierten Ansätzen wurden jeweils Lö-

sungen der reinen Ausgangssubstanzen gleicher Konzentration mitaufgetragen. Auf Grund der verschiedenen Ladungsformen und ihrer leichten Oxidierbarkeit zeigten diese im DC mehrere Flecke, die auch bei den Titrationsansätzen zu finden waren. Durch Vergleich konnte die Vielzahl der Flecke eliminiert und das Perjodatoxidationsprodukt bestimmt werden.

Die Rf-Werte der Oxidationsprodukte sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Als authentische Sulfonsäure wurde Cysteinsäure (Rf = 0,35 in Fließmittel 2) mitaufgetragen.

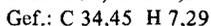
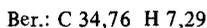
Substanz oxidiert	pH	Rf-Werte Fließm. 2	Ninhydrin-Reaktion Detektion 3
L- Cystein	3	0,35	violett
	6	0,35	violett
D-Penicill-amin	3	0,50	violett
	6	0,50	violett
		0,56	stärker violett
L-Cystin	2	0,35	violett
	6	0,35	violett
L-Cystein-methylester	3	0,45	gelb
L-Cystin-dimethylester	7-8	0,45	gelb
N-Acetyl-L-cystein	6	0,47	UV 254 nm

DC konnte nicht geklärt werden, ob sich bei der unvollständigen Oxidation im sauren Milieu ein Gleichgewicht zwischen Disulfid, Sulfin- und Sulfonsäure einstellte, da als Oxidationsprodukt im DC nur die Sulfonsäure zu erkennen war. Dagegen traten bei D-Penicillamin in neutraler Lösung 2 in der Intensität der Ninhydrinfärbung unterschiedliche Produkte auf, obwohl die Titration einen eindeutigen Verbrauch von 3 Mol NaJO_4 ergeben hatte, der für die quantitative Umsetzung zur Sulfonsäure sprach.

2,2'-Sulfinyldiaethanol (Bis [β -hydroxy-aethyl]-sulfoxid)

611 mg (= 0,005 Mol) 2,2'-Thiodiaethanol wurden in 100 ml Wasser gelöst, mit einer Lösung von 1,07 g (= 0,005 Mol) NaJO_4 in 100 ml Wasser versetzt und im Dunkeln unter gelegentlichem Umschütteln aufbewahrt. Nach 2 Std. war das Perjodat verbraucht, und es wurde soviel 99proz. Äthanol zugegeben, daß nach längerem Aufbewahren im Kühlschrank das entstandene Natriumjodat fast quantitativ ausfiel.

Das Filtrat wurde in Vak. zur Trockne eingeengt, erneut in Äthanol aufgenommen und vom Rückstand (NaJO_3) abgetrennt. Nach Einengen wurde das Filtrat zur Kristallisation kühl gestellt. Die farblosen Kristalle wurden abgesaugt, zweimal mit Äther gewaschen und 2 Tage über P_2O_5 getrocknet bei 40°. Farblose Nadeln, Schmp. 111^{o16}). Ausbeute: 0,664 g (96 % d. Th.)



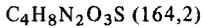
IR-Spektrum: (KBr) $\nu\text{S} \rightarrow \text{O}$ 1030 cm^{-1} (s)

16) A.H. Ford-Moore, J.chem.Soc. (London) 1949, 2126

2,2'-Sulfinylbisacetamid (2,2'-Thiobisacetamid-S-oxid)

296,3 mg (= 0,002 Mol) 2,2'-Thiobisacetamid wurden in 50 ml Wasser gelöst, tropfenweise mit einer Lösung von 428 mg (= 0,002 Mol) NaJO_4 in 50 ml Wasser versetzt und 24 Std. im Dunkeln gerührt bis NaJO_4 nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Der Ansatz wurde lyophilisiert, im Soxhlet 3 Tage mit Chloroform extrahiert und das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Der Rückstand wurde aus Wasser/Äthanol umkristallisiert. Weiße, sandige Kristalle, Schmp. 222° (Zers. ab 208°). Ausbeute: 30 mg (8,7 % d.Th.) Die geringe Ausbeute trotz vollständiger Umsetzung ist auf Trennungsschwierigkeiten von Sulfoxid und NaJO_3 zurückzuführen.

Zur Analyse wird dreimal aus wenig Wasser umkristallisiert.



Ber.: C 29,26 H 4,91 N 17,06

Gef.: C 29,11 H 4,91 N 16,96

IR-Spektrum: (KBr) $\nu\text{S} \rightarrow \text{O} = 1040 \text{ cm}^{-1}$ (s). Rf = 0,40 (Fließmittel 2, Detektion 1)

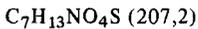
N-Acetyl-L-methionin-sulfoxid

Zu 956,2 mg (= 0,005 Mol) N-Acetyl-L-methionin in 200 ml Wasser wurden unter Lichtabschluß und ständigem Rühren eine Lösung von 1,605 g (= 0,0075 Mol) NaJO_4 in 150 ml Wasser zugetropft. Dabei trat eine schwache braune Verfärbung auf. Nach 3 Std. wurden 155 mg Äthylenglykol hinzugegeben, um den Überschuß an NaJO_4 zu reduzieren, weitere 2 Std. gerührt und der Ansatz lyophilisiert.

Der trockene Extrakt wurde mit abs. Äthanol ausgezogen, das Filtrat eingengt und mehrfach vom NaJO_3 abgetrennt. Nach Entfernen des Lösungsmittels i.Vak. erhielt man 1,0 g eines gelblich-braunen Öls zurück, das nach längerer Zeit im Kühlschrank durchkristallisierte. Rohausbeute: 1,0 g (= 96,6 % d.Th.). Rf = 0,25 Oxidationsprodukt (Fließmittel 1, Detektion 1) Rf = 0,5 N-Acetyl-L-methionin. Rf = 0,35 schwacher Fleck

Aus Aceton/Essigester umkristallisiert: Farblose, polyedrische Kristalle, Schmp. $129-130^\circ$. Rf = 0,25 einheitlich.

Aus Äthanol/Äther umkristallisiert: Farblose Nadeln, Schmp. 130° .



Ber.: C 40,56 H 6,32 S 15,48

Gef.: C 40,58 H 6,43 S 15,06

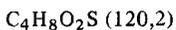
IR-Spektrum: $\nu\text{S} \rightarrow \text{O} = 1055 \text{ cm}^{-1}$ (s). Massenspektrum: 221 (m)

Mit Diazomethan wurde in ätherischer Suspension der N-Acetyl-L-methionin-sulfoxid-methylester dargestellt und aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Farblose, lange Nadeln, Schmp. 102° . Rf = 0,35 (Fließmittel 1, Detektion 1)

IR-Spektrum: NH-Valenzschw. 3280 cm^{-1} (s), Ester 1750 cm^{-1} (s), Amid 1670 cm^{-1} (s) / 1570 cm^{-1} (s)

1,4-Oxthian-4-oxid

Analog¹⁾ wurden 5,802 g (= 0,05 Mol) 1,4-Oxthian bei 0° zu einer Lösung von 11,22 g NaJO_4 in 105 ml Wasser gegeben und 20 Std. gerührt. Das ausgefallene NaJO_3 wurde abfiltriert, die Lösung mit NaCl gesättigt und wiederholt mit CHCl_3 extrahiert. Der Extrakt wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Ausbeute: 2,5 g (= 37 % d.Th.). Stark hygroskopische weiße Nadeln, deren Schmp. nicht bestimmt werden kann. IR-Spektrum: (CHCl_3) $\nu\text{S} \rightarrow \text{O} = 1020 \text{ cm}^{-1}$ (s).



Ber.: C 39,98 H 6,75

Gef.: C 37,67 H 6,57

Rf = 0,10 (Sulfoxid) (Fließmittel 3, Detektion 1) Rf = 0,67 (1,4-Oxthian)

3-Hydroxythian-1-oxid

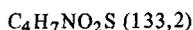
414 mg (= 0,0035 Mol) 3-Hydroxythian wurden bei 0° zu einer Lösung von 750 mg (= 0,00351 Mol) NaJO₄ in 15 ml Wasser gegeben und unter Lichtausschluß 50 Std. gerührt. Vom NaJO₃ wurde abfiltriert, der Rückstand 3 mal mit wenig Eiswasser gewaschen und die vereinigten Filtrate lyophilisiert. Der Rückstand wurde mehrfach mit CHCl₃ ausgezogen, eingeengt auf 10 ml und auf eine Säule mit neutralem Aluminiumoxid Woelm gegeben ($\phi = 1,5$ cm, Höhe 20 cm). Mit Ligroin/CHCl₃-Gemisch (20:80) wurde solange eluiert bis bei der DC das Sulfoxid mit auf der Platte erschien.

Mit 200 ml Methanol löste man das Sulfoxid von der Säule ab, befreite vom Lösungsmittel i.Vak. und mazerierte den Rückstand mit trockenem Äther, um Reste von 3-Hydroxythian herauszulösen. Der Rückstand war körnig-kristallin, aber sehr hygroskopisch. Rohausbeute: 374 mg (= 79,6 % d.Th.).

Zum Umkristallisieren suspendierte man den Rückstand in wenig wasserfreiem Ligroin und erwärmte die Lösung bis zum Schmelzen des Sulfoxids. Tropfenweise wurde abs. Äthanol zugegeben und nach Vermischen der Phasen zur Kristallisation unter Feuchtigkeitsausschluß beiseite gestellt. Ein Schmp. konnte der Hygroskopizität wegen nicht bestimmt werden. Die Kristalle wurden unter trockenem Äther aufbewahrt. Ausbeute: 267 mg (= 57 % d.Th.). Rf = 0,45 (Fließmittel 4, Detektion 1).

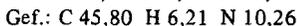
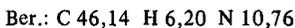
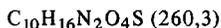
3-Thiomorpholinon-1-oxid (Tetrahydro-1, 4-thiazin-3-on-1-oxid)

Unter Lichtausschluß wurden zu 292,2 mg (= 0,0025 Mol) 3-Thiomorpholinon in 50 ml 0,05 m NaJO₄ gegeben und 20 Std. gerührt bis das Perjodat verbraucht war. Nach Lyophilisation des Ansatzes wurde der Rückstand mehrfach mit CHCl₃ ausgezogen, der Extrakt über Na₂SO₄ getrocknet und i.Vak. zur Trockne eingeengt. Weiße Kristalle aus abs. Äthanol, Schmp. 140° (Lit. 141-3°¹⁷). Reinausbeute: 177,65 mg (= 53,4 % d.Th.). Rf = 0,17 (Fließmittel 5, Detektion 1 und 2). IR-Spektrum: (KBr) $\nu_{\text{S}} \rightarrow \text{O} = 1040 \text{ cm}^{-1}$ (s).

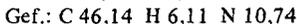
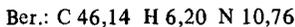
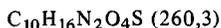
*Darstellung der diastereoisomeren Sulfoxide von d-Biotin*

300 mg d-Biotin wurden mit Wasserstoffperoxid nach⁴⁾ umgesetzt.

d-Biotin-1-sulfoxid. Nach viermaligem Umkristallisieren aus geringen Mengen Wasser erhielt man 30 mg (= 9,4 % d.Th.) Sulfoxid. Polymorphe Platten, Schmp. 238-240° (Zers.)⁴⁾



d-Biotin-d-sulfoxid. Aus Eisessig/Äthanol umkristallisiert. Prismatische Kristalle, Schmp. 203°.⁴⁾ Ausbeute: 86,3 mg (= 27 % d.Th.).



Rf = 0,48 d-Biotin (Fließmittel 5, Detektion 1, 2) Rf = 0,10 d-Biotin-l-sulfoxid, Rf = 0,20 d-Biotin-d-sulfoxid

17) H. Lehr, S. Karlan und M.W. Goldberg, J.med.Chem. 6, 136 (1963)