

isoThiocyanates V.
The Occurrence of isoPropyl
isoThiocyanate in Seeds and Fresh
Plants of Various Cruciferae

ANDERS KJÆR and JOSEF CONTI

Chemical Laboratory, University of
Copenhagen, Denmark

We wish to report the occurrence of *iso*-propyl isothiocyanate in plants belonging to the *Cruciferae*. To our knowledge this volatile mustard oil has not hitherto been reported as a constituent of any crucifer. The only previous indication of the natural occurrence of *isopropyl isothiocyanate* is found in the paper by Puntambekar ¹, who isolated a mixture of phenyl-, (+)-*sec*-butyl- and *isopropyl isothiocyanate* from seed kernels of the Indian plant *Putranjiva roxburghii* Wall., belonging to the family *Euphorbiaceae*.

During systematic studies of the volatile isothiocyanates in seeds of numerous crucifers by a paper chromatographic technique ², the appearance of spots with an *R_F*-value (cf. Ref. 2) of 0.41 was often noticed. Comparison with synthetic model thioureas showed that these spots were attributable to either *n*-propyl- or *isopropyl*-thiourea. Distillates of enzymatically cleaved glucosides from seeds of *Lunaria biennis* Mnch. yielded a single spot only, with an *R_F*-value of 0.40. Therefore,

this plant material was selected for isolation of the *isothiocyanate*.

The thoroughly ground seeds (97 g) were treated with a hot mixture of light petroleum and ethanol in order to denature the myrosinase, which otherwise acts on the glucoside during the following continuous and exhaustive extraction of residual fatty material with petroleum ether. The fat-free powder (71 g) was suspended in water (750 ml) and treated for 14 hours at room temperature with a cell-free myrosinase-preparation ³ (10 ml). At the end of this treatment an intensive odour of mustard oil was noticed. The reaction mixture was steam-distilled and the distillate collected in aqueous ammonia. After standing overnight at room temperature, the transformation into thiourea was virtually complete and the solution was concentrated to dryness *in vacuo*. The colourless, crystalline residue (370 mg) was recrystallised from water, m.p. 169–170°, alone or in admixture with a specimen of authentic *N-isopropylthiourea*. The identity was further confirmed by analysis (Calc. for $C_4H_{10}N_2S$: C 40.64; H 8.53; N 23.70. Found: C 40.64; H 8.54; N 23.67) and by infrared spectroscopy (Fig. 1).

So far, paper chromatographic studies have indicated the presence of *isopropyl isothiocyanate* also in the seeds of *Cochlearia officinalis* L. and *Cochl. danica* L. In both, the simultaneous presence of *sec*-butyl isothiocyanate was established. In seeds of *Matthiola annua*, a small amount of *isopropyl isothiocyanate* was present,

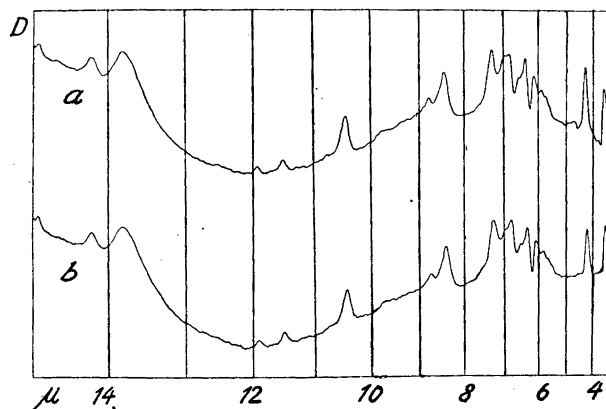


Fig. 1. Infrared spectra in Nujol mulls, showing the identity of *N-isopropylthiourea* from a natural source with a synthetic specimen. a. Synthetic *N-isopropylthiourea*. b. Thiourea derived from *Lunaria biennis* Mnch.

accompanied by a second mustard oil, presumably methyl isothiocyanate. The latter combination was present also in seeds of *Cheiranthus cheiri* L.

Seeds of *Tropaeolum peregrinum* (*canariense*), belonging to the family *Tropaeolaceae*, were found to contain *sec*-butyl isothiocyanate in addition to *isopropyl* isothiocyanate.

That the occurrence of the new isothiocyanate is not confined to seeds was demonstrated by the following example. Fresh plants (leaves, stems and flowers) of *Cochlearia anglica* (L.) Asch. & Grb. were homogenised in a Waring blender and steam-distilled. Following the procedure above, analytically pure *N-isopropylthiourea* was isolated in amounts of 55 mg from 500 g of fresh plant material containing 91.5 % of water.

Further results of these studies will appear in forthcoming papers in this journal.

This work is part of investigations supported by "Carlsbergfondet" (The Carlsberg Foundation).

1. Puntambekar, S. V. *Proc. Indian Acad. Sci.* **32 A** (1950) 114.
2. Kjær, A., and Rubinstein, K. *Acta Chem. Scand.* **7** (1953) 528.
3. Neuberg, C., and Wagner, J. *Biochem. Z.* **174** (1926) 457.

Received June 19, 1953.

Die Abwesenheit eines Austausches von Schwefelatomen zwischen Dithionit und Thiosulfat sowie zwischen Sulfat und Tetrathionat

HEINZ ELKELES

Institut für anorganische und physikalische Chemie der Universität, Stockholm, Schweden

Der Austausch von S^{35} zwischen *Dithionit* (Hyposulfit, $S_2O_4^{2-}$) und *Thiosulfat* ($S^*SO_3^-$), welches in seinem äusseren Schwefelatom mit S^{35} markiert war, ist untersucht worden.

Eine *alkalische* Natriumdithionitlösung (pH = 13) wurde mit markiertem Natriumthiosulfat versetzt. Das Molverhältnis Dithionit : Thiosulfat war 1 : 1. Nach 44

Stunden wurde die Lösung mit Jod-Jodidlösung (pH = 5) oxydiert. Dabei wurde das Dithionit in Sulfat und das Thiosulfat in Tetrathionat ($O_3SS^*S^*SO_3^-$) überführt. Das Sulfat wurde dann mit Bariumchlorid als Bariumsulfat gefällt und abzentrifugiert. Das Zentrifugat wurde mit Bromwasser versetzt, wobei das Tetrathionat zu Sulfat oxydiert und als Bariumsulfat abgeschieden wurde. Die Fällungen wurden gewaschen, getrocknet und ihre Radioaktivität bestimmt. Das ursprüngliche, markierte Thiosulfat wurde ebenfalls zu Sulfat oxydiert und die Aktivität des Bariumsulfates gemessen. Ein Versuch gab die Werte der Tabelle 1 (nach Abzug des Nulleffektes):

Tabelle 1.

Nr. BaSO ₄ herstammend von:	Impulse/ Min.
1 Dithionit nach der Separation	109
2 Thiosulfat » » »	3 829
3 ursprünglichen Thiosulfat	4 061

Es wurde festgestellt, dass sich vor der Jodoxydation kein Sulfid nach der Reaktion von Binz und Sondag¹ $S_2O_4^{2-} + S_2O_3^{2-} + 4 OH^- \rightarrow 3 SO_3^{2-} + S^{2-} + 2 H_2O$ gebildet hatte. Ausserdem wurde untersucht, ob *Tetrathionat* ($O_3SS^*S^*SO_3^-$) S^{35} mit inaktivem *Sulfat* austauscht. Ein Austausch konnte nicht festgestellt werden, dagegen eine gewisse Zersetzung des Tetrathionates. Dieses ist in Übereinstimmung mit der Arbeit von Kurtenacker, Mutschin und Stastny². Die Aktivität der ersten Fällung (Tabelle 1) kann deshalb dem Sulfat zugeschrieben werden, welches sich durch Zersetzung des Tetrathionates gebildet hat. Die grössere Aktivität der dritten Fällung gegenüber der Zweiten beruht darauf, dass die letztere mit inaktivem Bariumsulfat und -sulfit „verdünnt“ war. Sulfat und Sulfit sind durch Zersetzung von Dithionit entstanden.

In einer *schwach sauren* Lösung zersetzt sich das Dithionit in Bisulfit, Thiosulfat, Sulfat und Schwefel. Nach van der Heijde³ kommt in so einer Lösung auch ein momentaner Schwefelaustausch zwischen Sulfit und Dithionit vor (dagegen nicht in alkalischer Lösung). Aus diesen Gründen wurde das Verfahren für die Untersuchung von schwach sauren Lösungen (pH = 6) geändert:

Das pH der inaktiven Natriumdithionitlösung wurde mit Natriumacetat und