

139. Über Inhaltsstoffe des Rettichs I. Über Sulforaphen, ein Senföl aus Rettichsamen (*Raphanus sativus* L. var. *alba*)

von H. Schmid und P. Karrer.

(14. IV. 48.)

I. Historisches.

Rettichsaft ist ein altes Volksheilmittel zur Behandlung von Leber- und Gallenleiden und hat unter diesem Gesichtspunkt auch klinische Anwendung gefunden¹⁾. Über die Inhaltsstoffe des Rettichs liegen aber bis heute nur wenige chemische Untersuchungen vor.

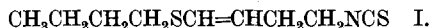
Pless²⁾ gab an, dass bei der Wasserdampfdestillation von Rettichknollen in geringer Menge ein farbloses, schwefelhaltiges Öl entsteht, das schwerer als Wasser ist und den Geschmack, nicht aber den Geruch des Rettichs besitzt.

Bertram und Walbaum³⁾ destillierten 75 kg Rettich (Knollen) mit Wasserdampf. Aus dem Destillat extrahierten sie mit Petroläther ein Öl, das mit Ammoniak nicht reagierte. Ihr Versuch wurde durch Gadamer⁴⁾ bestätigt. Letzterer extrahierte ausserdem frisch in Scheiben geschnittenen Rettich mit Äther und erhielt nach dem Verdampfen des Äthers eine kleine Menge Öl, das den Geruch und Geschmack des Rettichs aufwies und einige für Senföle charakteristische Reaktionen gab. Weitere Reinigungsversuche wurden nicht vorgenommen.

Bei der Destillation der Wurzeln von *Raphanus niger* hat Moreigne⁵⁾ neben wenig Öl einen festen, bei 62° schmelzenden Stoff festgestellt, den er Raphanol oder Raphanolid nannte; er ist später nicht mehr aufgefunden worden.

Eine etwas eingehendere Untersuchung des Rettichs (Knollen) führten A. Heiduschka und A. Zwergal⁶⁾ durch. Aus 100 g fein zerriebenem Schwarzrettich erhielten sie ein Wasserdampfdestillat, in dem sie den labilen Schwefel mit ammoniakalischer Silbernitratlösung bestimmten. Sie fanden dabei 16—18 mg Senföl (Allylsenföl) pro 100 g Rettich. *Raphanus sativus* var. *alba* lieferte pro 100 g 11—14 mg Senföl. Zu ähnlichem Ergebnis gelangte auch W. Schuphan⁷⁾.

Für die präparative Isolierung dieses Senföls destillierten A. Heiduschka und A. Zwergal etwa 1 Zentner Rettich mit Wasserdampf. Sie erhielten hierbei ca. 2 g eines Rohproduktes, aus dem sich durch Vakuumdestillation bei 140—142° und 20 mm Druck ein Öl abtrennen liess, dem sie die Zusammensetzung $C_9H_{15}NS_2$ und die Konstitution I zuerteilten:



Diese muss aber als ganz hypothetisch bezeichnet werden, da die genannten Autoren nur eine Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung ausführten und keine Versuche unternahmen, die Konstitution aufzuklären.

¹⁾ Vgl. z. B. W. Golder, Dtsch. med. Wschr. **64**, 1255 (1938). — K. Eimer und H. Henrich, Med. Welt **9**, 406 (1935). — H. A. Müller, Z. klin. Med. **126**, 679 (1934). — C. Friedländer, Wien. med. Wschr. **83**, 820 (1933). — R. Schraeder, Ztschr. klin. Med. **121**, 194 (1932).

²⁾ A. ch. **58**, 40 (1846).

³⁾ J. pr. [2] **50**, 560 (1894).

⁴⁾ Arch. Pharm. **237**, 520 (1899).

⁵⁾ J. Pharm. Chim. [6], **4**, 10 (1896); Bl. [3] **15**, 797 (1896). — Gildemeister, Die ätherischen Öle II, Seite 550 (1913).

⁶⁾ J. pr. **132**, 201 (1932).

⁷⁾ Forschungsdienst **4**, 127 (1937).

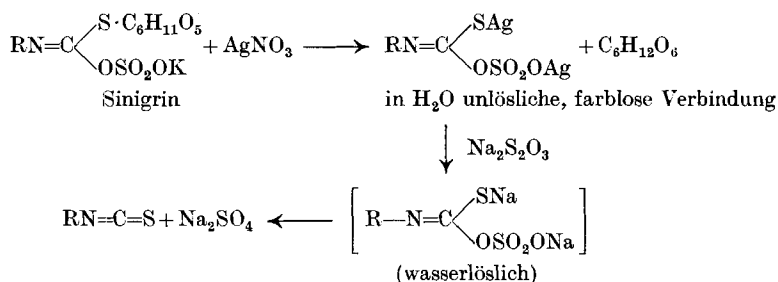
Über eine Schwefel-haltige Substanz aus Rettichsamen liegt eine kürzlich erschienene Mitteilung von *G. Ivánovics* und *St. Horváth*¹⁾ vor. Sie isolierten aus einem wässrigen Auszug dieser Samen (die Aufarbeitungsmethode ist nicht beschrieben) ein leicht gelbliches Öl vom Sdp. 135°/0,06 mm, dem sie die Formel $C_{17}H_{26}N_3O_3S_5$ oder $C_{17}H_{26}N_3O_4S_5$ zuerteilten. Dieses Öl war leicht löslich in Wasser, Äthanol, Butanol, Butyl- und Amylacetat, sowie in Chloroform, mässig löslich in Äther, schwer in Petroläther. Das hohe Molekulargewicht der vorgeschlagenen Formeln wäre mit dem relativ tiefen Siedepunkt des Öles schwer in Einklang zu bringen. Das Öl zeigte gegenüber *Staphylococcus aureus*, *Bact. coli* und anderen Mikroorganismen deutliche antibiotische Wirkung.

In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass nach Angaben von *P. W. Schmidt* und *U. Marquardt*²⁾ Rettich gegenüber Kulturen von *Epidermophyton interdigitale* antimykotische Wirkung besitzen soll.

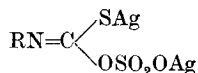
II. Das Senföl aus Samen von *Raphanus sativus* var. *alba*.

Die Samen von *Raphanus sativus* var. *alba* enthalten ein Senföl, aber nicht in freiem Zustand, sondern als wasserlösliches Glucosid. Letzteres konnten wir noch nicht rein isolieren; diese Aufgabe bleibt ein Ziel unserer weiteren Arbeiten. Die Abtrennung des Aglykons, des freien Senföls, gelang unschwer mittels einer Methode, die unseres Wissens hier zum erstenmal für die Isolierung solcher Verbindungen angewandt wird.

*J. Gadamer*³⁾ hat gefunden, dass sich bei der Einwirkung von Silbernitrat auf das Senfölglycosid Sinigrin folgende Umsetzungen abspielen:



Diese Reaktion haben wir angewandt, um das Senföl aus den Rettichsamen in reinem Zustand abzutrennen: die zerriebenen Samen wurden mit verdünntem Aceton oder Methanol extrahiert, die organischen Lösungsmittel weitgehend entfernt und durch Wasser ersetzt und in die wässrige Lösung Silbernitrat eingetragen. Hierbei schied sich das Silbersalz eines Senföls



aus. Aus diesem erhielt man durch Einwirkung von Natriumthiosulfat das Senföl selbst, das wir Sulforaphen nennen.

¹⁾ Nature **160**, 297 (1947).

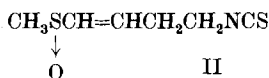
²⁾ C. **1937** I, 1708.

³⁾ Arch. Pharm. **237**, 507 (1899).

Die Verbindung wurde durch wiederholte Destillation im Hochvakuum und durch Verteilungschromatographie an feuchtem Kiesel säuregel (aus Äther-Chloroformlösung) gereinigt. Sie ist ein farbloses Öl, das im Kugelrohr unter 0,015 mm Druck bei 125—130° destilliert. $[\alpha]_D = -108^\circ (\pm 2^\circ)$ in Chloroform, $-136^\circ (\pm 2^\circ)$ in Alkohol. Die Molekularformel ist $C_6H_9ONS_2$, Mol.-Gew. gef. 215 (in Campher), 174 (in Benzol); berechnet 175.

Die Substanz ist sehr leicht löslich in Wasser, Methanol und Chloroform, mässig löslich in Äther, unlöslich in Petroläther. Ammoniakalische Silbernitratlösung fällt aus der wässrigen Lösung des Sulforaphens Silbersulfid aus. Mit Nitroprussidnatrium und *Grote-Reagens*¹⁾ zeigt die Verbindung keine Farbreaktionen; erwärmt man sie jedoch vorerst mit 3-proz. alkoholischer Lauge, so erzeugt Nitroprussidnatrium Violettfärbung. Nach den Ergebnissen der potentiometrischen Titration ist keine basische Gruppe vorhanden.

Alle Eigenschaften und Reaktionen, die wir mit Sulforaphen ausführten, beweisen, dass diesem die Formel II zukommt; es ist das Methyl-[4-thioisocyan-buten-(1)-yl-(1)]-sulfoxyd.



Für diese Konstitution sprechen folgende Tatsachen:

1. Eine quantitative Bestimmung des durch ammoniakalische Silbersalzlösung abspaltbaren Schwefels ergab, dass hierbei 1 S-Atom aus dem Sulforaphen als Silbersulfid abgespalten wird (Schwefel der Isorhodangruppe).

2. Parallel angesetzte Oxydationen von Benzylsenföl und von Sulforaphen mit Perphthalsäure führten zu dem Ergebnis, dass ersteres 2, letzteres 4 Atome Sauerstoff aufnimmt, von diesen 2 sehr schnell (vgl. Titrationskurve Fig. 1). Diese beiden zusätzlichen Sauerstoffatome werden offensichtlich zur Oxydation des Sulfoxyds zur Sulfongruppe sowie zur Absättigung der Kohlenstoffdoppelbindung verbraucht.

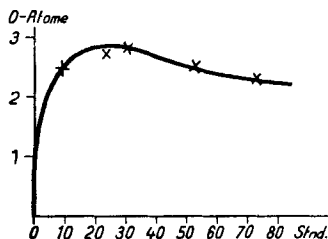


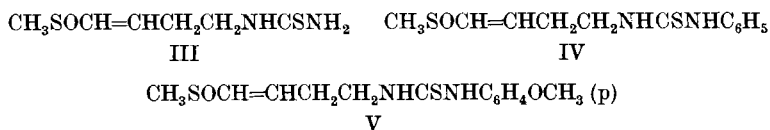
Fig. 1.

Abszisse: Zeit in Stunden.

Ordinate: Differenz der Sauerstoffaufnahme von Sulforaphen und Benzylsenföl.

¹⁾ J. Biol. Chem. **93**, 25 (1931).

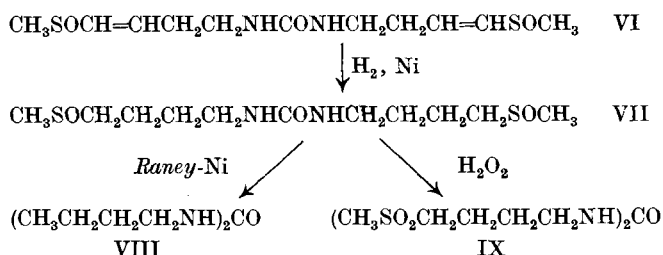
3. Durch Einwirkung von alkoholischem Ammoniak auf Sulforaphen bildet sich dessen Thiou Reid (III), mit Anilin das Phenylthiou Reid (IV) und mit Anisidin das p-Anisyl-thiou Reid (V), die alle gut krystallisieren.



Durch diese Reaktionen wird das Vorkommen der Isothiocyan-gruppe im Sulforaphen auf eine zweite Art bewiesen (sie geht schon aus dem Isolierungsverfahren der Verbindung hervor) und die Brutto-formel des Senföls erneut bestätigt.

4. Durch Oxydation von Sulforaphen mit rauchender Salpeter-säure entstand in guter Ausbeute Methansulfonsäure $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, die man als krystallisiertes Bariumsalz isolierte.

5. Die Einwirkung von Silberoxyd auf die wässrige Lösung des Sulforaphens führte zu einem gut krystallisierten Stoff, für den seine Eigenschaften und weitere Umwandlungen die Formel des NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl-(3)]-ureids (VI) beweisen. Wird er mit *Raney-Nickel* W 2¹⁾ und Wasserstoff vorsichtig reduziert, so geht er unter Aufnahme von 2 Mol. Wasserstoff in das NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butyl]-ureid (VII) über:



Durch energische Einwirkung von *Raney-Nickel* W 4¹⁾ wird das Ureid VII entschwefelt; das Reaktionsprodukt ist NN'-Di-n-butylharnstoff (VIII), den man in guter Ausbeute erhielt. Er erwies sich mit einem, aus n-Butylsenföl und Ag_2O synthetisch bereiteten Präparat von NN'-Di-n-butylharnstoff identisch.

Schliesslich führte die Oxydation des Ureids VII mit Wasserstoffperoxyd in Eisessig-Essigsäureanhydridlösung zum NN'-Di-[4-methylsulfonyl-n-butyl]-ureid (IX). Während NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl-(3)]-ureid (VI) und NN'-[4-methylsulfoxyd-n-butyl]-ureid (VII) optisch aktiv sind, zeigen die Verbindungen VIII und IX keine optische Drehung mehr. Daraus ergibt sich, dass die optische Aktivität des Sulforaphens (II) und seiner Derivate III,

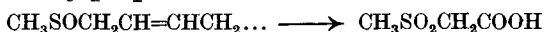
¹⁾ H. Adkins und A. A. Pavlic, Am. Soc. 69, 3039 (1947).

IV, V, VI und VII einzig durch die Asymmetrie der Sulfoxydgruppe bedingt wird.

6. Durch die vorstehend mitgeteilten Versuchsergebnisse ist die Formel des Sulforaphens bis auf die Lage der Kohlenstoffdoppelbindung bewiesen. Dieser letzte Punkt konnte durch Abbau des NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl-(3)]-ureids (VII) mit Ozon abgeklärt werden. Hierbei bildete sich in 50% Ausbeute Methansulfonsäure $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$; dieselbe Substanz entstand auch beim Abbau des Sulforaphens mit Bariumpermanganat bei 0° bis Zimmertemperatur in einer Ausbeute von 71%. Die Kohlenstoffdoppelbindung muss daher in Konjugation mit der Sulfoxydgruppe liegen, d. h. der Abbau hat sich in folgender Weise vollzogen:



Wäre die Kohlenstoffdoppelbindung des Sulforaphens von der Sulfoxydgruppe weiter entfernt gelegen, so hätten sich durch den Abbau mit Ozon, bzw. Bariumpermanganat, Methylsulfonyl-essigsäure oder evtl. Methylsulfonylpropionsäure bilden müssen:



Verbindungen, die unter den angewandten Oxydationsbedingungen beständig sind¹⁾.

Das Absorptionsspektrum des Sulforaphens (Fig. 2) ist nicht sehr charakteristisch; es lässt ein flaches Maximum bei ca. 225 m μ er-

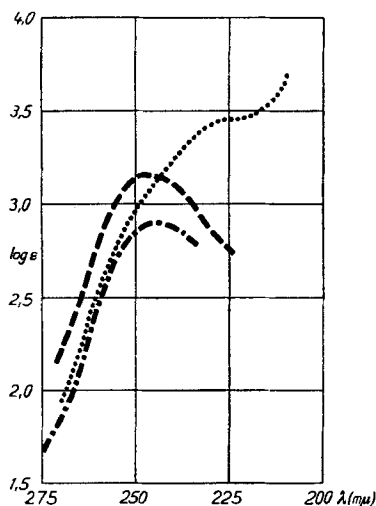


Fig. 2.

..... Sulforaphen (in Wasser). - · - · - n-Butylsenföl (in Alkohol).
 ----- Allylsenföl (in Alkohol).

¹⁾ E. Baumann und G. Walter, B. **26**, 1124 (1893); A. Mellander, Svensk kem. Tidskr. **46**, 99 (1934); W. Schneider, A. **375**, 207 (1910).

kennen (Lösungsmittel Wasser). Zum Vergleich sind noch die Absorptionsspektren von Allylsenföl und von n-Butylsenföl (in Alkohol) angeführt.

Im Sulforaphen liegt ein neuer Typus eines Senföls vor, das als zweite funktionelle Gruppe einen Sulfoxydrest enthält. Sulforaphen ist der erste bekanntgewordene Naturstoff, dessen optische Aktivität allein durch die Asymmetrie einer Sulfoxydgruppe bedingt wird. Im Alliin, das kürzlich von A. Stoll und E. Seebeck¹⁾ beschrieben wurde, ist neben der asymmetrischen Sulfoxydgruppe noch ein asymmetrisches C-Atom vorhanden.

Der eine von uns (H. S.) dankt der Jubiläumsspende für die Universität Zürich für die Mittel zur Anschaffung einer Hochvakuumpumpe und einer potentiometrischen Titrationsapparatur.

Experimenteller Teil.

Isolierung des Sulforaphens aus den Samen von *Raphanus sativus* L. var. alba.

4 kg frische Rettichsamens (Sorte „Mairettich“) hat man fein zermahlen und unmittelbar darauf mit einem Gemisch von 6 Liter Aceton und 2 Liter Wasser 3 Stunden ausgekocht. Sodann wurde scharf abgesaugt und mit 1 Liter des obigen Lösungsmittelgemisches nachgewaschen. Den Samenrückstand extrahierte man noch zweimal in derselben Weise. Die vereinigten Filtrate engte man im Vakuum bei 35° (Badtemperatur) bis auf etwa 400–500 cm³ ein und schüttelte diesen Auszug zur Entfernung fettiger Substanzen einige Male mit je 2–3 Liter Petroläther aus. Die Petrolätherextrakte wurden zweimal mit je 70 cm³ Wasser ausgeschüttelt und der Wasserauszug mit dem ursprünglichen vereinigt. (An Stelle des Auskochens mit wässrigem Aceton kann mit gleichem Erfolg mehrmaliges Behandeln des Extraktionsgutes mit kaltem Methanol treten.)

Die wässrige, dunkel gefärbte Lösung haben wir unter Eiskühlung und stetem Umschwenken mit einem starken Überschuss von 60-proz. Silbernitratlösung versetzt. Man liess zwei Tage im Eisschrank stehen und saugte die grau gefärbte Silberverbindung ab. Den Niederschlag hat man einmal mit kalter 60-proz. wässriger Silbernitratlösung verrieben, erneut abgenutscht und mit Silbernitratlösung nachgewaschen. Das noch feuchte Silbersalz haben wir nun in eine mit Eis gekühlte und turbinierte 60-proz. wässrige Lösung von Natriumthiosulfat (etwa 300–400 cm³) in kleinen Portionen eingetragen. Nach 2-stündigem Rühren wurde über Glaswolle filtriert und das dunkel gefärbte Filtrat erschöpfend mit einem Gemisch aus 8 Volumteilen peroxydfreiem Äther und 2 Volumteilen Chloroform extrahiert. Diese Extraktion nahm 5–6 Tage in Anspruch.

Der gelb gefärbte Extrakt wurde im Vakuum eingedampft, in trockenem Aceton aufgenommen, filtriert und erneut eingedampft. Den öligen Rückstand hat man 3mal mit je 30 cm³ tiefsiedendem Petroläther ausgekocht und hierauf den unlöslichen Teil im Hochvakuum aus einem Kugelhörnchen destilliert. Die Hauptmenge destillierte bei 130–150° (Badtemperatur) unter 0,01 mm Druck. Das nur schwach gelb gefärbte Destillat stellte bereits ziemlich reines Sulforaphen dar. Die durchschnittliche Ausbeute war 8 g, d. h. 0,2%, bezogen auf lufttrockene Samen. Die Drehung²⁾ eines solchen Präparates betrug $[\alpha]_D = -123^\circ$ ($c = 1,398$; Chloroform). Nach nochmaliger Destillation fand man nach Abtrennung eines Vor- und Nachlaufes für die Hauptfraktion folgende Werte: $[\alpha]_D^{19} = -113^\circ$ ($c = 1,541$; Chloroform), $[\alpha]_D^{17} = -113^\circ$ ($c = 1,502$; Chloroform) und $[\alpha]_D^{18} = -137^\circ$ ($c = 1,416$; Alkohol).

¹⁾ Helv. **31**, 189 (1948).

²⁾ Alle Drehungen wurden im 1 dm-Rohr bestimmt.

Reinigung des Sulforaphens.

Man löste 7,8 g rohes Sulforaphen in 15 cm³ feuchtem Chloroform und versetzte bis zur eben auftretenden Trübung mit feuchtem, peroxydfreiem Äther. Diese Lösung goss man auf eine Säule (33×4,2 cm) von feuchtem, mit Wasser neutral gewaschenem Kieselgel¹⁾ (Korngrösse 0,1 mm), das vorher mit einem feuchten Äther-Chloroform-Gemisch 3:1 vorgewaschen worden war. Zum Entwickeln des „Verteilungschromatogrammes“ diente dasselbe, mit Wasser gesättigte Lösungsmittelgemisch.

Frakt.	Lösungsmittel	cm ³	Menge eluierter Substanz g
1	Äther-Chloroform 3 : 1 .	100	Spuren
2-5	„ „ 3 : 1 .	400	0,169
6	„ „ 3 : 1 .	100	0,584
7	„ „ 3 : 1 .	100	1,209
8	„ „ 3 : 1 .	100	1,804
9-10	„ „ 3 : 1 .	200	2,549
11-12	„ „ 3 : 1 .	200	0,667
13-17	„ „ 3 : 1 .	500	0,380
18	„ „ 3 : 1 .	750	0,103

Die Fraktion 9—10 zeigte nach der Hochvakuumdestillation folgende Drehung: $[\alpha]_D = -105^\circ$ (Chloroform). Da auch die Fraktionen 7—12 ähnliche Werte gaben, wurden sie vereinigt, in 50 cm³ Wasser gelöst, mit Norit $\frac{1}{2}$ Stunde geschüttelt, filtriert und das wasserklare Filtrat im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand lieferte nach zweimaliger Hochvakuumdestillation aus dem Kugelrohr (125—130°; 0,015 mm) das Sulforaphen als farbloses Öl.

Aus der Säule liess sich mit Methanol in geringer Menge ein Öl eluieren, das sich durch starke Linksdrehung ($[\alpha]_D$ ca. -190°) auszeichnet, dessen nähere Untersuchung aber noch aussteht.

Das reine Sulforaphen ist spielend löslich in Wasser, Methanol, Chloroform, mässig löslich in Äther und unlöslich in Petroläther.

Präparate aus verschiedenen Aufarbeitungen gaben die nachfolgenden spez. Drehungen:

$$[\alpha]_D^{14} = -108^\circ \pm 2^\circ \text{ (c = 1,427 Chloroform)}$$

$$[\alpha]_D^{17} = -108^\circ \pm 2^\circ \text{ (c = 1,671 Chloroform)}$$

$$[\alpha]_D^{19} = -107^\circ \pm 2^\circ \text{ (c = 1,370 Chloroform)}$$

$$[\alpha]_D^{18} = -108^\circ \pm 2^\circ \text{ (c = 1,401 Chloroform)}$$

$$[\alpha]_D^{14} = -136^\circ \pm 2^\circ \text{ (c = 1,378 Alkohol)}$$

C ₆ H ₉ ONS ₂	Ber. C 41,10	H 5,18	N 8,00	S 36,60%	
(175,20)	Gef. „ 41,01	„ 5,14	„ 8,06	„ 35,48%	kein Methoxyl
	Gef. „ 41,42	„ 5,39	„ 8,41; 8,09	„ 35,58%	

Aktiver Wasserstoff: Gef. (kalt) 0,01% (warm) 0,137%.

Molekulargewichtsbestimmungen.

6,711 mg Sulforaphen in 112,33 mg Campher (Smp. 168,7°; K = 40) gaben eine Schmelzpunktniedrigung $\Delta T = 11,1^\circ$, woraus sich ein MG von 215 errechnet.

¹⁾ Chemische Fabrik Uetikon.

Kryoskopische Bestimmung in Benzol ($K = 5,12$) nach *Beckmann*:

	30,25 g Benzol	0,1742 g Substanz	0,1931 g Substanz
Smp.	2,350°	2,166 ⁰¹⁾	1,997 ⁰¹⁾
Unterkühlung . .		1,119 ⁰¹⁾	0,842 ⁰¹⁾

Daraus ergeben sich für das Molekulargewicht von Sulforaphen Werte von 166 und 181, im Durchschnitt 174.

Eine gleich ausgeführte Molekulargewichtsbestimmung von Phenylsenföf ($M = 149$) gab Werte von 152 und 145.

Weitere Eigenschaften des Sulforaphens.

Sulforaphen gab beim Kochen mit wässriger Silbernitratlösung, rascher noch mit ammoniakalischer Silbernitratlösung, eine starke Fällung von Silbersulfid. Mit wässriger Quecksilber(II)-chloridlösung bildete sich ein farbloser Niederschlag, den wir aber nicht näher untersucht haben.

Sulforaphen zeigte mit 3-proz. alkoholischer Lauge und Natriumnitroprussid in Wasser oder mit dem *Grote*-Reagens²⁾ keine Farbreaktion, auch wenn Kaliumcyanid zugefügt wurde. Erwärmte man jedoch den Stoff mit 3-proz. alkoholischer Lauge und setzte jetzt nach dem Abkühlen Natriumnitroprussidlösung zu, so konnte das Auftreten einer intensiven rot-violetten Farbe beobachtet werden.

Sulforaphen liess bei der potentiometrischen Titration keine sauren oder basischen Gruppen erkennen.

Bestimmung des labilen Schwefels im Sulforaphen.

a) Man erwärmte eine Lösung von 153,9 mg Sulforaphen in 10 cm³ 10-proz. Ammoniak und 50,00 cm³ 0,1-n. Silbernitratlösung 1½—2 Stunden auf dem Wasserbad. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde mit Wasser auf 100 cm³ aufgefüllt, durch ein trockenes Faltenfilter filtriert und im Filtrat nach dem Ansäuern die unverbrauchten Silberionen durch Titration eines aliquoten Teiles mit 0,1-n. Kaliumrhodanid bestimmt. Verbrauch 18,47 cm³ 0,1-n. AgNO₃, was 1,05 Mol Ag₂S entspricht.

b) Bei einem zweiten Versuch haben wir 145,0 mg Sulforaphen wie unter a) behandelt. In diesem Falle wurde aber das ausgeschiedene Silbersulfid abfiltriert und bei 100° zur Konstanz getrocknet. Auswaage Ag₂S 230,8 mg, was 1,12 Mol entspricht.

Vergleichende Titration von Sulforaphen und Benzylsenföf mit Phtalmonopersäure.

Man bereitete sich Lösungen a) von 224,8 mg reinem Benzylsenföf in 8,00 cm³ Chloroform; b) von 262,8 mg Sulforaphen in 8,00 cm³ Chloroform. Beide Lösungen versetzte man bei 0° mit 25,00 cm³ einer ätherischen Lösung von Phtalmonopersäure, die im cm³ 3,066 · 10⁻⁴ aktive Sauerstoffatome enthielt. Gleichzeitig wurde eine Blindprobe aus 8,00 cm³ Chloroform und 25,00 cm³ Persäurelösung angesetzt. Alle drei Proben hat man möglichst bei 0° aufbewahrt. Von Zeit zu Zeit wurden, nachdem die Proben mindestens eine Stunde in Eiswasser gehalten worden waren, mit der gleichen Pipette aliquote Teile entnommen und in diesen der Gehalt an unverbrauchter Persäure jodometrisch bestimmt. Im Vergleich zur Blindprobe haben dabei das Benzylsenföf und das Sulforaphen die folgenden Mengen von Sauerstoffatomen verbraucht.

¹⁾ Mittelwert aus 3 Ablesungen.

²⁾ J. Biol. Chem. **93**, 25 (1931).

Zeit in Stunden	O-Verbrauch von Benzylsenfö	O-Verbrauch von Sulforaphen	Δ O
2,5	0,27	1,87	1,60
5,5	0,49	2,54	2,05
9,0	0,66	3,15	2,49
24,0	1,07	3,78	2,71
31,0	1,31	4,11	2,80
53,5	1,98	4,50	2,52
73,5	2,35	4,66	2,31

Thioureid aus Sulforaphen.

Eine Lösung von 285,5 mg Sulforaphen in 1 cm³ absolut alkoholischem Ammoniak (120 mg NH₃ enthaltend) schmolz man in eine Ampulle ein und liess 6 Tage bei 37° stehen. Nachher hat man wenig Äther zugesetzt und die erhaltenen Krystalle zweimal aus Methanol umgelöst. Smp. 219—220° unter Zersetzung. Ausbeute 158 mg. Das Sulforaphen-thioureid gab mit dem *Grote*-Reagens eine grüne Farbe, die nach einiger Zeit in Blau überging. Beim Kochen mit ammoniakalischer Silbernitratlösung schied sich Silbersulfid ab.

$$[\alpha]_D^{15} = -72^\circ \pm 2^\circ \quad (c = 1,127; \text{Wasser})$$

$$\begin{array}{lll} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{ON}_2\text{S}_2 & \text{Ber. C } 37,46 & \text{H } 6,29 \quad \text{N } 14,57\% \\ (192,24) & \text{Gef. ,, } 37,61 & \text{,, } 6,02 \quad \text{,, } 14,58\% \end{array}$$

Phenylthioureid aus Sulforaphen.

450 mg Sulforaphen, 287,5 mg frisch destilliertes Anilin und 1 cm³ absoluter Alkohol wurden, in einer Ampulle eingeschmolzen, 10 Tage bei 37° aufbewahrt. Die Lösung, aus der sich manchmal schon Krystalle ausgeschieden hatten, wurde mit absolutem Äther bis zur eben auftretenden Trübung versetzt und in den Eisschrank gestellt. Am nächsten Tag saugte man die erhaltenen Krystalle ab und wusch sie mit Äther. Die Ausbeute betrug 587,4 mg; im Durchschnitt mehrerer Versuche lag die Ausbeute zwischen 74—85% der Theorie. Das Phenylthioureid des Sulforaphens schmolz nach mehrmaligem Umlösen aus absolutem Alkohol bei 121°. Mit ammoniakalischer Silbernitratlösung trat beim Erwärmen Abscheidung von Silbersulfid ein.

$$[\alpha]_D^{18} = -105^\circ (\pm 2^\circ) \quad (c = 1,025; \text{Chloroform})$$

$$\begin{array}{lll} \text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ON}_2\text{S}_2 & \text{Ber. C } 53,68 & \text{H } 6,01 \quad \text{N } 10,44\% \\ (268,27) & \text{Gef. ,, } 53,62 & \text{,, } 5,86 \quad \text{,, } 10,16\% \end{array}$$

p-Anisidyl-thioureid aus Sulforaphen.

Man liess 294 mg Sulforaphen mit 286 mg reinem p-Anisidin in 1 cm³ absolutem Alkohol 8 Tage bei 37° stehen. Nach der Zugabe von Äther krystallisierte im Eisschrank das Thioureid in fast farblosen Krystallen aus. Zur Reinigung haben wir die Verbindung unter Noritzusatz zweimal aus Alkohol-Äther umgelöst. Smp. 104—105°.

$$\begin{array}{lll} \text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2\text{S}_2 & \text{Ber. C } 52,30 & \text{H } 6,08 \quad \text{N } 9,39\% \\ (298,29) & \text{Gef. ,, } 52,54 & \text{,, } 5,85 \quad \text{,, } 9,43\% \end{array}$$

4,701 mg Substanz in 88,296 mg Campher (Smp. 173,2°; K = 40) gaben eine Schmelzpunktniedrigung $\Delta T = 8,0^\circ$, woraus sich ein Molekulargewicht von 266 ergibt.

Oxydation des Sulforaphens mit rauchender Salpetersäure.

Man goss 8 cm³ rauchende, frisch destillierte Salpetersäure in ein Bombenrohr, kühlte mit Eis-Kochsalz-Mischung und trug vorsichtig 0,9 g Sulforaphen ein.

Die Vereinigung der beiden Substanzen erfolgte unter teilweiser Feuererscheinung. Nachdem die heftige Reaktion nachgelassen hatte, wurde das Bombenrohr zugeschmolzen und 2 Stunden auf 145° erhitzt. Nachher wurde der Inhalt auf dem Wasserbad abgeraucht und so oft (5mal) Wasser zugefügt und wieder eingedampft, bis alle Salpetersäure entfernt war (Probe mit Lackmuspapier). Man nahm in Wasser auf und versetzte mit der heissen Lösung von 2,96 g $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ in 50 cm³ Wasser. Nach dem Erwärmen auf dem Wasserbad wurde CO_2 eingeleitet, die Flüssigkeit erhitzt, nochmals mit CO_2 gesättigt und wieder 15 Minuten erhitzt. Wir filtrierten vom Unlöslichen ab, wuschen mit heissem Wasser nach und dampften das neutral reagierende Filtrat auf etwa 10 cm³ ein. Nach der Zugabe von 80 cm³ absolutem Alkohol schieden sich nach einiger Zeit farblose Krystalle aus, die abgesaugt und mit Alkohol und Äther gewaschen wurden. Ausbeute 645 mg. Aus der eingeeengten Mutterlauge liessen sich auf neuerlichen Alkoholzusatz noch weitere 136 mg derselben Verbindung gewinnen. Die Gesamtausbeute betrug demnach 781 mg d. s. 80% der Theorie (bezogen auf $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{Ba} \frac{1}{2}, 1 \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$). Nach nochmaligem Umlösen aus Wasser-Alkohol erhielten wir das Bariumsalz der Methansulfosäure in Form perlmutterglänzender Krystalle. Zur Analyse wurde im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd bei 110° getrocknet.

$\text{C}_1\text{H}_3\text{O}_3\text{SBa} \frac{1}{2}$	Ber. C 7,33	H 1,85	Ba 41,94%
(163,76)	Gef. „ 7,52	„ 2,06	„ 41,56%

Behandlung von Sulforaphen mit Silberoxyd.

Man löste 1,00 g Sulforaphen in 20 cm³ Wasser und versetzte unter gutem Turbinieren mit 2,032 g frisch制备tem, alkalifreigewaschenem Silberoxyd. Unter Erwärmung trat Abscheidung von Silbersulfid ein. Zur Vervollständigung der Reaktion haben wir noch 3 Stunden bei 65—70° gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, gründlich mit heissem Wasser nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Den Rückstand haben wir noch 3mal mit absolutem Alkohol übergossen, das Lösungsmittel wieder verdampft und die feste Substanz unter Noritzzusatz mehrmals aus absolutem Alkohol-Äther und Chloroform-Essigester umkrystallisiert. Smp. 112—113°. Die Ausbeute an Rohprodukt (Smp. 106—108°) betrug 636 mg, im Durchschnitt mehrerer Versuche lag sie bei 75—83% der Theorie. Es handelt sich um das NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl(3)]-ureid. Der Stoff gab weder mit Nitroprussidnatrium noch mit dem *Grote*-Reagens, auch nicht nach dem Kochen mit alkoholischer Lauge oder auf Kaliumcyanidzusatz, eine Farbreaktion.

$[\alpha]_D^{17} = -157^\circ (\pm 3^\circ)$ ($c = 0,504$; Chloroform).	
$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_2\text{S}_2$	Ber. C 45,16 H 6,90 N 9,58%
(292,30)	Gef. „ 44,84 „ 6,51 „ 9,37%

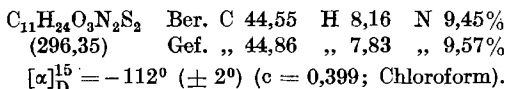
Die Substanz enthält keine an Kohlenstoff gebundene Methylgruppe, denn eine C-Methoxybestimmung gab Werte, die innerhalb der Versuchsfehlerbreite liegen (0,6% CH_3); für 2 C— CH_3 -Gruppen berechnen sich 10,29%.

NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl]-ureid.

a) 104,4 mg NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl(3)]-ureid in 5,5 cm³ absolutem Methanol wurden mit einer Spatelspitze vorhydriertem *Raney*-Nickel W2 und Wasserstoff geschüttelt. In 15 Minuten war die Hydrierung beendet. Die Wasserstoffaufnahme betrug bei 16,0° und 730 mm 18,5 cm³, was 2,10 Mol entspricht.

b) 519,6 mg Substanz in 18 cm³ Methanol nahmen unter gleichen Bedingungen innerhalb 40 Minuten bei 16° und 734 mm 92 cm³ Wasserstoff auf, was 2,14 Mol entspricht.

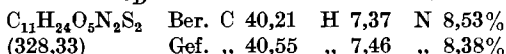
Zur Aufarbeitung haben wir sofort nach beendeter Hydrierung vom Katalysator abfiltriert, gründlich mit Methanol nachgewaschen und im Vakuum eingedampft. Der krystallisierte Rückstand wurde unter Noritzzusatz mehrmals aus absolutem Alkohol-Äther umgelöst. Smp. 127—128°. Die Ausbeute war fast quantitativ. Es handelt sich um das NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl]-ureid.



NN'-Di-[4-methylsulfon-n-butyl]-ureid.

Eine Lösung von 130 mg NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butyl]-ureid in 2,0 cm³ Eisessig liess man mit 0,14 cm³ Perhydrol und 0,5 cm³ Essigsäureanhydrid 2½ Tage bei 20° gut verschlossen stehen. Zu der Lösung, aus der sich bereits farblose Krystalle ausgeschieden hatten, wurde absoluter Äther zugefügt. Nach längerem Stehen hat man das in fast quantitativer Ausbeute ausfallende NN'-Di-[4-methylsulfon-n-butyl]-ureid abgesaugt und gründlich mit Äther gewaschen. Nach dem Umlösen aus Methanol oder Wasser erhielten wir farblose Krystallnadeln vom Smp. 169—170°.

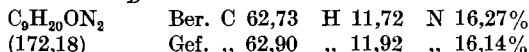
$$[\alpha]_{\text{D}} = 0,00^{\circ} \quad (c = 0,42; \text{Wasser})$$



NN'-Di-n-butylharnstoff aus NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butyl]-ureid.

Eine Lösung von 223,1 mg NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butyl]-ureid in 30 cm³ absolutem Alkohol wurde mit 3 g Raney-Nickel W 4 3 Stunden bei 40° und 1 Stunde bei 75° gerührt. Darauf zentrifugierten wir das Nickel ab und wuschen dieses 8mal mit absolutem Alkohol aus. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, in Alkohol aufgenommen, mit Norit behandelt und wieder eingedampft. Den Rückstand haben wir bei 115—120° (Badtemperatur) und 0,005 mm als farbloses, rasch erstarrendes Öl destilliert. Der NN'-Di-n-butylharnstoff schmolz nach dem Umlösen aus einem Gemisch von wenig Äther mit Petroläther bei 75°. Die Ausbeute betrug 114 mg, das sind 88% der Theorie.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{17} = 0,00^{\circ} \quad (c = 0,92; \text{Alkohol})$$



NN'-Di-n-butylharnstoff aus n-Butylsenföf.

Wir erwärmten eine Mischung von 2,2 g reinem n-Butylsenföf, 6,2 g frisch gefälltem, alkalifreiem Silberoxyd, 27 cm³ Alkohol und 15 cm³ Wasser 3 Stunden unter Turbinieren auf 65—70°. Der Niederschlag wurde abfiltriert, gut mit Alkohol nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum zur Trockene gebracht. Den Rückstand haben wir bei 125—135° und 0,03 mm aus einem Kugelrohr destilliert. Als Vorlauf (bis 100°) ging etwas öliges n-Butylurethan über. Nach dem Umlösen aus Chloroform-Petroläther erhielten wir 1,21 g Nadeln (Smp. 71—73°), das sind 73% der Theorie. Nach nochmaliger Hochvakuumdestillation (115°/0,03 mm) lag der Schmelzpunkt des NN'-Di-n-butylharnstoffs bei 75°. Im Gemisch mit der entsprechenden Verbindung aus NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butyl]-harnstoff trat keine Schmelzpunktserniedrigung auf.

Ozonisierung von NN'-Di-[4-methylsulfoxyd-n-butenyl(3)]-ureid.

Man löste 500 mg Substanz in 15 cm³ reinem Eisessig und leitete durch diese, möglichst mit Eis gekühlte Lösung während 130 Minuten ein Ozon-Sauerstoffgemisch, das 1,8% Ozon enthielt. Strömungsgeschwindigkeit 200 cm³ pro Minute. Nachdem das überschüssige Ozon durch trockenen Sauerstoff verdrängt worden war, liess man die Lösung des Ozonids mit 1 cm³ Perhydrol 1¾ Tage bei 18° stehen. Danach wurden 10 cm³ Wasser zugesetzt und die Lösung im Vakuum bei 20° Badtemperatur weitgehend eingengt. Nach Zugabe von 20 cm³ Wasser hat man erneut eingedampft. Diesen Vorgang hat man so oft (8—10mal) wiederholt, bis aller Eisessig abdestilliert war. Der durch öfteres Abdampfen mit absolutem Benzol getrocknete Rückstand wurde noch 1 Stunde im Hochvakuum auf 40° erwärmt und dann erschöpfend mit trockenem Äther ausgekocht. Der Ätherauszug hinterliess nach dem Abdampfen ein farbloses Öl, das in wenig Wasser aufgenommen

und mit 0,5-n. Barytlauge neutralisiert wurde (Indikator: Phenolphthalein). Von wenig ausgefallenem Produkt wurde abfiltriert und die klare Lösung im Vakuum völlig eingedampft. Man nahm in wenig Wasser auf, filtrierte und versetzte das Filtrat mit etwa der 10-fachen Menge an starkem Alkohol. Nach dem Stehen im Eisschrank filtrierten wir die noch nicht sehr schön ausgebildeten Krystalle ab. Ausbeute 273 mg, das sind 50% der Theorie für $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{Ba} \frac{1}{2}$, $1 \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$; gef. Ba 39,72%. Zur Reinigung wurde in wenig Wasser gelöst und so lange mit Methanol versetzt, bis keine Trübung mehr entstand. Nach längerem Stehen saugte man die amorphe Fällung (etwas 4–5 mg) ab, engte das Filtrat ein und versetzte in der Hitze mit Alkohol. Das Bariumsalz der Methansulfonsäure krystallisierte sofort in schön ausgebildeten Krystallen. Zur Analyse wurde bei 100–110° über Phosphorperoxyd im Hochvakuum getrocknet.

$\text{C}_1\text{H}_3\text{O}_3\text{SBa} \frac{1}{2}$	Ber. C 7,33	H 1,85	Ba 41,94%
(163,76)	Gef. „ 7,74	„ 1,81	„ 41,78%

Oxydation von Sulforaphen mit Bariumpermanganat.

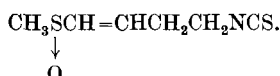
Eine Lösung von 538,9 mg Sulforaphen in 25 cm³ Wasser hat man unter ständigem Schütteln und Kühlen auf 0° tropfenweise mit einer wässrigen Lösung von Bariumpermanganat versetzt, die 28,77 mg dieses Salzes im cm³ enthielt. Nachdem die Mischung bei 0° gegenüber dem Oxydationsmittel einige Zeit beständig war, brachte man sie auf 18° und fügte unter Einleiten von CO₂ weitere Mengen des Oxydationsmittels zu. Nach dem Zusatz von 102,5 cm³ Permanganatlösung, d. h. 7,7 O-Atomen, blieb die Farbe etwa $\frac{3}{4}$ Stunden bestehen. Am nächsten Tag filtrierten wir nach dem Erhitzen auf dem Wasserbad vom Braunstein ab und kochten diesen mehrere Male mit Wasser aus. Die vereinigten Filtrate wurden mit Barytlauge deutlich alkalisch gestellt und eingedampft, wobei die Lösung immer alkalisch blieb. Hierauf nahmen wir den Rückstand in wenig Wasser auf, sättigten die Lösung mit Kohlensäure, erwärmten $\frac{1}{4}$ Stunde auf dem Wasserbad und wiederholten diesen Vorgang nochmals. Wir filtrierten dann vom Unlöslichen ab wuschen mit heissem Wasser nach und dampften das Filtrat auf wenige cm³ ein. Nach nochmaliger Filtration wurde absoluter Alkohol zugesetzt. Das ausgeschiedene Bariumsalz wog 641 mg. Nach dem Umlösen aus Wasser-Alkohol erhielten wir 552 mg krystallisiertes Bariumsalz, das aber noch nicht ganz rein war. Durch Behandeln mit Methanol (siehe oben) trennte man die Verunreinigung (100 mg, gef. Ba 36,29%) ab und erhielt hierauf etwa 420 mg (d. h. 71% der Theorie) reines Bariumsalz der Methansulfonsäure. Zur Analyse wurde nochmals aus Wasser-Alkohol umkrystallisiert und wie üblich getrocknet.

$\text{C}_1\text{H}_3\text{O}_3\text{SBa} \frac{1}{2}$	Ber. C 7,33	H 1,85	Ba 41,94%
(163,76)	Gef. „ 7,60	„ 2,09	„ 41,91%

Hinweise für das Vorkommen eines homologen Bariumsalzes haben wir nicht finden können.

Zusammenfassung.

Aus Rettichsamen (*Raphanus sativus* var. *alba* L.) wurde eine schwefelhaltige Verbindung, das Sulforaphen, gewonnen, das in den Samen als Glucosid vorkommt. Sulforaphen ist ein eine Sulfoxydgruppe enthaltenes Senföl der Konstitution



Diese Formel wird durch Abbaureaktionen bewiesen. Die optische Aktivität der Verbindung beruht auf der Asymmetrie der Sulfoxydgruppe.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.