

148. Über Inhaltsstoffe des Rettichs II. Optisch aktives 4-Methyl-sulfoxyd-buten-(3)-yl-cyanid als Spaltprodukt eines Glucosids aus den Samen von Raphanus sativus var. alba

von H. Schmid und P. Karrer.

(28. IV. 48.)

In der 1. Mitteilung¹⁾ über Bestandteile aus Rettich berichteten wir über die Isolierung und die Konstitution des Sulforaphens (I), eines optisch aktiven Senföles aus den Samen von *Raphanus sativus* var. *alba*. Das in den Samen glucosidisch vorliegende Senföl wurde dabei über eine Silberverbindung abgetrennt und durch Hochvakuumdestillation und „Verteilungschromatographie“ gereinigt. Bei der letzten Operation liess sich in geringer Menge ein Begleitstoff entfernen, der sich durch eine starke Linksdrehung auszeichnete. Über ihn wird in der vorliegenden Arbeit berichtet.

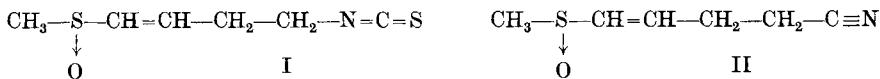
Die genannte Verbindung konnte durch Verteilen zwischen feuchtem Kieselgel als stabile Phase und mit Wasser gesättigtem Äther-Butanol als labile Phase gereinigt werden. Sie ist ein farbloses und fast geruchloses Öl, das im Kugelrohr bei 0,001 mm und 120—125° destilliert und $[\alpha]_D = -196^\circ$ (Alkohol) zeigt. Die Substanz löst sich leicht in Wasser und Alkohol, wenig in Äther und sehr schwer in Petroläther.

Die Bruttoformel der neuen Verbindung ist C_6H_9ONS ; sie unterscheidet sich von derjenigen des Sulforaphens $C_6H_9ONS_2$ nur durch den Mindergehalt eines Schwefelatoms. Da der Stoff mit ammoniakalischer Silbernitratlösung keine Reaktion gibt, fehlt in ihm die Isothiocyanogruppe des Sulforaphens. An ihre Stelle ist eine Nitrilgruppe getreten; denn beim Verkochen mit 2-n. Lauge wurde etwa 1 Mol Ammoniak (gef. 0,73 Mol) abgespalten. Der Körper enthält keine nach Zerevitinoff nachweisbaren aktiven H-Atome. Bei der katalytischen Hydrierung mit *Raney-Nickel W 2* beobachtete man die Aufnahme von 3 Molen Wasserstoff, wovon das erste, welches zur Absättigung einer Doppelbindung diente, sehr rasch absorbiert wurde. Oxydation des Cyanids mit rauchender Salpetersäure führte zur Methansulfonsäure, die wir als krystallisiertes Bariumsalz gefasst haben. Beim Behandeln mit konz. Salpetersäure bildete sich unter gleichzeitiger Verseifung des Cyanrestes Bernsteinsäure.

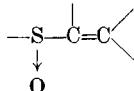
Unter Berücksichtigung dieser Befunde und der angeführten Bruttoformel folgt, dass in dem Nitril aus *Raphanus sativus* die optische Aktivität durch eine Sulfoxydgruppe bedingt wird und dass

¹⁾ Helv. 31, 1017 (1948).

ihm die Konstitution des 4-Methylsulfoxid-butene-(3)-yl-cyanids (II) zukommen muss.



In Fig. 1 ist das U.V.-Absorptionsspektrum von II in Wasser wiedergegeben. Man erkennt eine Inflection bei ca. $225 \text{ m}\mu$, die auch im Absorptionsspektrum des Sulforaphens auftritt und offenbar dem Chromophor



zuzuordnen ist.

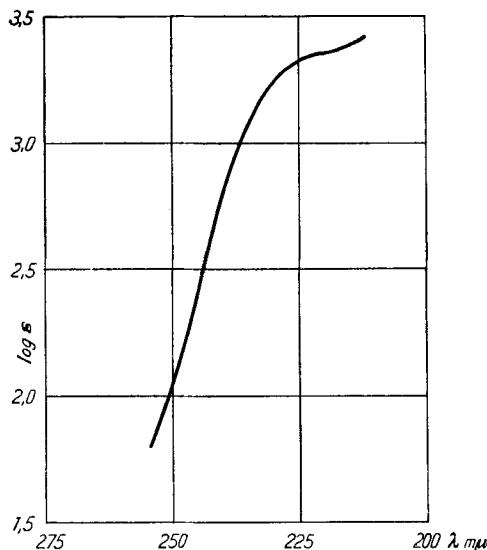


Fig. 1.
4-Methylsulfoxid-butene-(3)-yl-cyanid in Wasser.

Man hat das gleichzeitige Auftreten eines Senföls und des ihm entsprechenden Nitrils bei der Isolierung aus derselben Pflanze schon früher beobachtet. So sind z. B. aus *Lepidium sativum*¹⁾²⁾ und *Tropaeolum majus*³⁾⁴⁾ Benzylsenföl und Benzylecyanid, aus *Nasturtium officinale*⁴⁾²⁾ Phenyläthylsenföl und Phenyläthylecyanid erhalten worden.

¹⁾ A. W. Hofmann, B. 7, 1293 (1874).

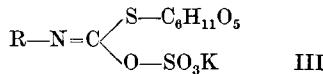
²⁾ J. Gadamer, B. 32, 2335 (1899), Arch. Pharm. 237, 507 (1899).

³⁾ A. W. Hofmann, B. 7, 518 (1874).

⁴⁾ J. Gadamer, Arch. Pharm. 237, 111 (1899), A. W. Hofmann, B. 7, 520 (1874).

Die genannten Senföle bzw. Nitrile hatte man durch eine Wasser-dampfdestillation des Pflanzenmaterials abgetrennt. Dabei zeigte sich, dass sehr fein zerkleinertes Material fast reines Senföl, wenig oder nicht vorbehandelte Pflanzenteile dagegen hauptsächlich Nitril lieferten.

In allen diesen Fällen kommen weder das Isothiocyanid noch das Nitril als solche in grösserer Menge in der Pflanze vor; sie entstehen erst durch Spaltung bzw. Umwandlung desselben nativen Senfölglycosides (III).



Während die durch Fermente oder durch Silbernitrat und Thiosulfat¹⁾ bewirkte Überführung des Glucosides in das Senföl leicht verständlich erscheint, bedarf der zum Nitril führende Reaktionsweg noch der näheren Aufklärung.

Zum Schluss möchten wir noch kurz auf einige biologische Untersuchungen mit dem Sulforaphen (I) hinweisen. Die Verbindung zeigt ausgesprochene „Blastokolin“⁽²⁾-Eigenschaften. Bei einer Verdünnung von 1:1000 wird die Keimung von Kressesamen vollständig unterdrückt, bei einer Verdünnung von 1:5000 und 1:10 000 noch zu etwa 75 bzw. 25 %. Die Entwicklung der gekeimten Samen ist in den beiden letzten Fällen gegenüber den Kontrollen stark zurückgeblieben. n-Butyl-, Benzyl- und Allylsenföl erwiesen sich dagegen in den Keimversuchen als sehr wenig wirksam.

Sulforaphen besitzt auch schwache antibiotische Wirkung. Herr Prof. Grummbach (Hygiene-Institut der Universität Zürich) hatte die Freundlichkeit, Sulforaphen (I), sowie 4-Methylsulfoxid-but-en-(3)-yl-cyanid (II) auf bakteriostatische Wirkung zu prüfen, wofür wir unseren besten Dank aussprechen. Bei Anwendung der Cup-Methode nach Heatly erwies sich Sulforaphen gegen verschiedene Mikroorganismen in 1-proz. Lösung wirksam, während 1 $\%$ -ige Lösungen praktisch unwirksam waren. 4-Methylsulfoxid-but-en-(3)-yl-cyanid besass keine antibiotischen Eigenschaften.

Versuche mit Sulforaphen	1 mg/0,1 cm ³	0,1 mg/0,1 cm ³
Streptococcus C 26/29	24 ³⁾ (9) ⁴⁾	13 (9)
Streptococcus N	20 (9)	—
Gärtner.	28 (9)	—
Pyococcus aureus	22 (9)	—
B. Coli	20 (9)	—
Pneumococcus 1	22 (9)	—

¹⁾ J. Gadamer, Arch. Pharm. 237, 507 (1899).

²⁾ A. Köckemann, Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 523 (1934), Beih. bot. Zbl. **55**, 191 (1936).

Vgl. H. Schmid, Helv. 27, 1197 (1944).

³⁾ Durchmesser der wachstumsfreien Zone in mm.

⁴⁾ Durchmesser des Röhrchens in mm.

Experimenteller Teil.

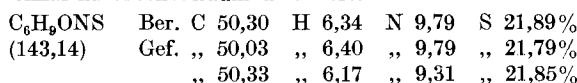
Isolierung und Reinigung des 4-Methylsulfoxid-butene-(3)-yl-cyanids.

Bei der Reinigung des Sulforaphens durch „Verteilungschromatographie“ verblieb in der mit Wasser gesättigten Kieselgelsäule ein Stoff, der durch Auswaschen der Säule mit Methanol und Verdampfen des Lösungsmittels im Vakuum als gelb gefärbtes Öl erhalten werden konnte. Die Verbindung zeichnete sich durch eine starke Linksdrehung ($[\alpha]_D$ ca. -190°) aus und liess sich aus dem Kugelrohr bei 120—130° und 0,001 mm destillieren. Aus etwa 10 kg Samen von *Raphanus sativus alba* erhielt man 2,5 g dieser Verbindung, das sind 0,02%.

Zur Reinigung löste man das Öl (2,5 g) in 5 cm³ feuchtem Chloroform und fügte bis zur eben beginnenden Trübung peroxydfreien Äther zu. Diese Lösung goss man auf eine Säule (27 × 2,2 cm) von mit Wasser gesättigtem Kieselgel (Korngösse 0,1 mm). Zum Entwickeln des „Verteilungschromatogramms“ dienten die in der Tabelle angeführten, mit Wasser gesättigten Lösungsmittelgemische.

Fraktion	cm ³	Lösungsmittelgemisch	Eluat mg
1—2	100	Äther-Chloroform 3:1	90,5
3—6	550	Äther-Chloroform 3:1	70,8
7	200	Äther-Butanol 1:1	913,5
8	100	Äther-Butanol 1:1	969,0
9	100	Äther-Butanol 1:1	235,6
10—14	480	Äther-Butanol 1:1	99,0
15—17	250	Butanol	Spuren

Aus der Fraktion 8 erhielten wir durch eine Kugelrohrdestillation bei 120° (Luftbadtemperatur) und 0,001 mm das 4-Methylsulfoxid-butene-(3)-yl-cyanid als farbloses, geruchloses Öl (850 mg). Vor- und Nachlauf waren praktisch nicht vorhanden. Auch aus den Fraktionen 7 und 9 erhielt man den gleichen Stoff. Zur Analyse haben wir die Verbindung noch zweimal im Hochvakuum destilliert.



Die Substanz enthielt nur Spuren von nach Zerewitinoff bestimmmbaren Wasserstoff.

$$[\alpha]_D^{13} = -196^{\circ} (\pm 2^{\circ}) \quad (c = 0,739; \text{abs. Alkohol})$$

Das Naturprodukt zeigte keine Reaktion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung und mit Natriumnitropurussäidlösung.

Mikrohydrierung. 32,422 mg 4-Methylsulfoxid-butene-(3)-yl-cyanid in 5 cm³ absolutem Methanol mit einer Spatelspitze von vorhydriertem Raney-Nickel W 2 und Wasserstoff geschüttelt, nahmen bei 15,0° und 731 mm Druck innerhalb von 252 Minuten 16,55 cm³ Wasserstoff auf; das sind 2,97 Mole. Das erste Mol (5,57 cm³) wurde dabei innerhalb 4 Minuten absorbiert.

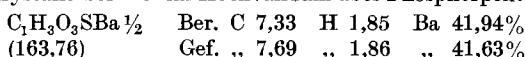
Verseifung mit Lauge. In einer geeigneten Schliffapparatur erwärmtten wir 49,2 mg des Nitrils mit 5 cm³ 2-n. Kalilauge unter Durchleitung eines reinen Stickstoffstromes zum gelinden Sieden. Das in Freiheit gesetzte Ammoniak wurde in einem genau abgemessenen Volumen von 0,1-n. Salzsäure aufgefangen. Das im Kolben verdampfte Wasser hat man von Zeit zu Zeit wieder durch Zugabe von destilliertem Wasser ergänzt. Nach 4-stündigem Erhitzen waren in der Vorlage 2,42 cm³, nach zwei weiteren Stunden noch 0,07 cm³ 0,1-n. Salzsäure, insgesamt also 2,49 cm³ 0,1-n. Salzsäure verbraucht worden. Dies entspricht 0,73 Molen Ammoniak.

In einem zweiten Versuch hat man das in Freiheit gesetzte Ammoniak in eiskaltem Wasser aufgefangen, die Lösung mit Salzsäure neutralisiert und im Vakuum eingedampft. Der feste Rückstand wurde zur Reinigung bei 12 mm sublimiert und analysiert.



Oxydation mit rauchender Salpetersäure.

70 mg Nitrit wurden mit 1 cm³ rauchender Salpetersäure 2½ Stunden im Bombenrohr auf 160° erhitzt. Den Bombeninhalt hat man auf dem Wasserbad abgeraucht und so oft mit destilliertem Wasser abgedampft, bis alle Salpetersäure vertrieben war. Den in Wasser aufgenommenen ölichen Rückstand versetzte man mit der wässerigen Lösung von 300 mg Ba(OH)₂, 8 H₂O und sättigte hierauf die Reaktionsmischung mit Kohlensäure. Nach ¼-stündigem Erwärmen auf dem Wasserbad wurde abfiltriert, mit heißem Wasser nachgewaschen und das neutral reagierende Filtrat im Vakuum eingedampft. Nach dem Umlösen aus Wasser-Alkohol erhielt man 25 mg des Bariumsalzes der Methansulfonsäure. Zur Analyse haben wir dieses nochmals aus Wasser umkristallisiert, hierauf die perlmutterglänzenden Krystalle bei 110° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.



Oxydation mit konz. Salpetersäure.

70 mg Nitrit wurden mit 3 cm³ Salpetersäure ($d = 1,4$) 3 Stunden bei 20° und hierauf 8 Stunden auf dem Wasserbad behandelt. Die mit Wasser verdünnte Lösung hat man auf dem Wasserbad völlig eingedampft, den Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, die Flüssigkeit mit Kaliumchlorid gesättigt und mit Äther extrahiert. Der eingedampfte Ätherrückstand wurde bei 0,01 mm destilliert. Bis 110° ging ein Vorlauf, aus Oxalsäure und vermutlich Bernsteinsäureanhydrid bestehend, über. Die zwischen 110—140° destillierende Fraktion nahmen wir nach nochmaliger Destillation in wenig Chloroform auf. Der unlösliche Teil lieferte nach nochmaliger Hochvakuumsublimation bei 125—130° Krystalle vom Smp. 183—184°, die im Gemisch mit Bernsteinsäure bei der gleichen Temperatur schmolzen.

Keimversuche mit Kresse-Samen (*Lepidium sativum*).

Die Versuche wurden in *Petri*-Schalen, die mit Filterpapier ausgelegt waren, durchgeführt. Das Filterpapier wurde dabei mit Wasser bzw. mit der zu prüfenden wässrigen Lösung befeuchtet.

Substanz in H ₂ O	nach 5 Tagen keimten von 100 Samen	Wurzellänge in mm
Sulforaphen 1:1000	0	—
Allylsenföl 1:1000	30	5,36
n-Butylenföl (gesättigte Lösung)	93	14,3
Benzylsenföl (gesättigte Lösung)	94	7,6
Wasser	95	13,8

Substanz in H ₂ O	nach 3 Tagen keimten von 100 Samen	Wurzellänge in mm
Sulforaphen 1:5000	25	1,5
Wasser	89	9,0

Substanz in H ₂ O	nach 6 Tagen keimten von 100 Samen	Wurzellänge in mm
Sulforaphen 1:5000	34	2,5
Allylsenföl 1:5000	86	14,6
Sulforaphen 1:10000	78	5,3
Wasser	93	16,4
Allylsenföl 1:10000	92	13,7

Zusammenfassung.

Aus den Samen von Raphanus sativus var. alba wurde als Spaltstück des darin vorkommenden Senfölglicosids das 4-Methyl-sulfoxyd-buten-(3)-yl-cyanid gewonnen und dessen Formel aufgeklärt. Seine optische Aktivität verdankt es der asymmetrischen Sulfoxyd-Gruppierung.

Das in der letzten Mitteilung beschriebene Sulforaphen aus Rettichsamen hemmt die Keimung von Kressesamen in einer Verdünnung von ca. 1:5000. Gegenüber verschiedenen Mikroorganismen besitzt es schwache antibiotische Wirkung.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

149. Beziehungen zwischen Gestalt und Dipolmoment bei Fadenmolekülen

von Werner Kuhn.

(30. IV. 48.)

1. Problemstellung.

In einer demnächst erscheinenden Arbeit von *W. Kuhn* und *H. Kuhn* soll das Problem des dielektrischen Relaxationszeit-Spektrums von Hochpolymeren in Lösung behandelt werden. Es stellt sich im Rahmen dieser Betrachtungen das allgemeine Problem der Beziehungen zwischen Gestalt und Dipolmoment von statistisch geformten Fadenmolekülen. Die Frage besitzt für sich genommen, als statistisches Problem, ein Interesse und soll im nachfolgenden besprochen werden.

Wir betrachten somit einen aus N_m statistischen Fadenelementen der Länge A_m bestehenden Molekelfaden. Nach Festlegung von N_m und A_m können alle wünschbaren Aussagen über die geometrische Form der Molekelfäden bzw. über deren Häufigkeit gemacht werden. So ist die Wahrscheinlichkeit $W(h)dh$ dafür, dass der Abstand der