

192. Die Isolierung von Sinigrin als genuine, krystallisierte Muttersubstanz des Meerrettichöls

von A. Stoll und E. Seebeck.

(26. VI. 48.)

Der Meerrettich, *Cochlearia armoracia* L. (*Nasturtium armoracia* L. (F. Schultz)), wird ausser als Gewürz und Nahrungsmittel seit langem auch in der Volksmedizin verwendet, wobei Rheuma, Gicht und Skorbut als Indikationen genannt werden. In neuerer Zeit haben verschiedene Autoren die antibakterielle Wirkung¹⁾ und speziell auch eine antimykotische Wirkung²⁾ nachgewiesen. Der intensive Geruch und der äusserst scharfe Geschmack des zerkleinerten Meerrettichs haben indessen eine allgemeine Anwendung erschwert. Da ähnlich wie beim Knoblauch bekannt war, dass Meerrettichwurzeln nur schwach oder gar nicht riechen, solange sie intakt sind, und dass der typische scharfe, die Augen reizende Geruch auftritt, sobald die Wurzeln zerrieben werden, hat es nicht an Versuchen gefehlt, geruch- und geschmacklose Meerrettichpräparate herzustellen. Ausgehend von der Annahme, dass es Enzyme seien, die die stechend riechende Substanz in Freiheit setzen, wurden entweder die intakten Wurzeln mit Alkoholdampf behandelt oder die fein zerschnittenen Wurzeln mit Säuren befeuchtet, wodurch enzymatische Spaltungen verhindert werden sollten³⁾.

Seit der Untersuchung von C. Hubatka⁴⁾ war bekannt, dass die im flüchtigen Meerrettichöl in der Hauptsache enthaltene Substanz mit dem Senföl, das aus den Samen des schwarzen Senfs hergestellt werden kann, nämlich mit Allyl-iso-thiocyanat identisch ist.

Gadamer⁵⁾ hat später die Vermutung ausgesprochen, dass das Sinigrin, das er aus den Samen des schwarzen Senfs isoliert hatte, auch die Muttersubstanz des Senföls im Meerrettich sei. Er konnte nämlich aus einem geruch- und geschmacklosen Meerrettichextrakt nach Zusatz von Myrosinase (Sinigrase), dem Enzym des schwarzen und des weissen Senfs, Allylsenföl abspalten. Ferner konnten im wasserdampfppflüchtigen Meerrettichöl neben Allylsenföl kleine Mengen

¹⁾ E. Glaser und F. Prinz, Fermentforsch. **9**, 64 (1926); E. Glaser und R. Drobnik, Arch. exp. Path. Pharmacol. **193**, 1 (1939).

²⁾ M. J. Foter und A. M. Golick, Food Res. **3**, 609 (1938); P. W. Schmidt und U. Marquardt, Zbl. Parasitenkunde, Infektionskrankh. I, **138**, 104 (1936).

³⁾ D.R.P. 647.067 von H. Moser, Landau; Dän. P. 44.268 und 50.827 von L. J. E. Rasmussen, Kolding.

⁴⁾ A. **47**, 153 (1843).

⁵⁾ J. Gadamer, Arch. Pharm. **235**, 577 (1897).

von Phenyl-äthyl-senföl und Phenyl-butyl-senföl¹⁾ sowie später von Butyl-senföl²⁾ nachgewiesen werden. In keinem Fall war es jedoch bisher gelungen, die Muttersubstanz eines der Senföle aus dem Meerrettich rein darzustellen und genau zu charakterisieren.

Im folgenden wird nun gezeigt, wie es nach einem relativ einfachen Verfahren, das sich in der Vorbereitung des Pflanzenmaterials und dessen Extraktion an die kürzlich mitgeteilte Darstellung des Alliins aus Knoblauch³⁾ anlehnt, gelang, die genuine Muttersubstanz des Meerrettichöls in reiner und krystallisierter Form darzustellen und sie mit dem Glykosid Sinigrin zu identifizieren.

Als Ausgangsmaterial dienen möglichst frische Meerrettichwurzeln, die vor dem Zerkleinern tiefgekühlt und in gefrorenem Zustand gemahlen werden. Bevor das glykosidspaltende Enzym zur Wirkung kommt, wird das fein zerriebene Material in Methanol eingetragen und die Extraktion bei $+10^{\circ}$ durchgeführt. Da die Meerrettichwurzeln 60–70% Wasser enthalten, gehen grosse Mengen von in wässrigem Methanol löslichen Stoffen in das Lösungsmittel über, aus 1 kg Meerrettich z. B. 60 g Trockensubstanz, die, wie schon *Gadamer* zeigte, zu einem grossen Teil aus Rohrzucker besteht; dieser kann in verdünnt wässriger Lösung mit Bäckereihefe vergoren werden. Die Gärflüssigkeit, die nur noch 40% der ursprünglichen Trockensubstanz aufweist, wird einer Reinigung mit Bleihydroxyd und Bleiessig unterzogen und nach der Entbleiung im Vakuum auf 50% Trockenrückstand eingedampft. Zusatz von Alkohol bringt das rohe Sinigrin zur Krystallisation; durch Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol kann es rein erhalten werden. Die einzelnen Phasen der Arbeitsweise sollen durch das folgende Beispiel illustriert werden:

3 kg frische Meerrettichwurzeln werden in einer Kühlanlage bei -25° gefroren, hierauf mit 3 kg fester Kohlensäure gemischt und in einer zuvor gekühlten Scheibemühle fein gemahlen. Das Mahlgut wird sofort und unter Rühren in 9 Liter Methanol eingetragen, auf $+10^{\circ}$ erwärmt und bei dieser Temperatur noch eine Stunde weiter gerührt. Dann wird abgenutscht und der Rückstand erneut mit 5 Liter 80-proz. Methanol während einer Stunde gerührt. Die vereinigten Auszüge werden im Vakuum auf etwa $\frac{1}{2}$ Liter eingedampft, wobei der Holzgeist vollständig verjagt wird. Nach Zugabe von 2 Liter Wasser filtriert man durch ein mit Talk gedichtetes Filter von fettig schmierigen Flocken ab. Nun lässt man das Filtrat mit 30 g Bäckereihefe unter öfterem Umschwenken 2 Tage lang bei Zimmertemperatur stehen. Nach dem Abfiltrieren der Hefe dampft man die gelbgefärbte Lösung im Vakuum auf 1 Liter ein und schüttelt sie während 20 Minuten mit aus 70 g Bleiacetat frisch hergestelltem Bleihydroxyd, filtriert und gibt zum Filtrat so viel Bleiessig, bis keine momentane Fällung mehr eintritt. Vom Bleiniederschlag wird abfiltriert und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit. Die nun fast farblose Lösung dampft man im Vakuum auf 120 g (enthaltend 60 g Trockenrückstand) ein, versetzt bei Zimmertemperatur mit 180 cm³ absolutem Alkohol und impft mit Sinigrin an. Die Krystallisation tritt alsbald ein und ist nach drei Tagen bei Zimmertemperatur und zwei weiteren Tagen bei -3° beendet (15,5 g). Das rohe Krystallinat löst man unter Erwärmen in 20 cm³ Wasser, gibt 80 cm³ heissen absoluten Alkohol zu und filtriert von wenig ungelösten Flocken ab. Aus der klaren Lösung erscheinen beim allmählichen Erkalten auf -3° 10,6 g lange, dünne Prismen, die zwischen 127 und 128^o unter Zersetzung schmelzen.

Die Substanz ist in Wasser sehr leicht löslich, schwer löslich in konzentriertem Alkohol, unlöslich in Äther, Benzol usw.

1) *A. Heiduschka und A. Zwergal*, J. prakt. Ch.[2] **132**, 201 (1932).

2) *S. Blumenthal*, Fruit Prod. J. Am. Vinegar. Ind. **16**, 239 (1937).

3) *A. Stoll und E. Seebeck*, Helv. **31**, 189 (1948).

Die gefundenen Werte der *Elementaranalyse* stimmen mit der Bruttoformel $C_{10}H_{16}O_9NS_2K$, H_2O bzw. $C_{10}H_{16}O_9NS_2K$ überein.

3,272; 3,190 mg Substanz gaben 3,542; 3,425 mg CO_2 ; 1,315; 1,225 mg H_2O und 0,680; 0,670 mg K_2SO_4

9,332; 9,618 mg Substanz gaben 0,274; 0,289 cm^3 N_2 (20°, 746 mm)

$C_{10}H_{16}O_9NS_2K$, H_2O (415,3)	Ber. C	28,92	H	4,33	N	3,37	K	9,39%
	Gef. „	29,52	„	4,49	„	3,36	„	9,32%
	„ „	29,28	„	4,30	„	3,44	„	9,42%

Trocknet man die Substanz vor dem Verbrennen im Hochvakuum bei 70°, so verliert sie ein Mol Krystallwasser:

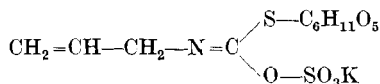
3,034 mg Substanz gaben 3,327 mg CO_2 und 1,115 mg H_2O

9,282 mg Substanz gaben 0,293 cm^3 N_2 (20°, 737 mm)

$C_{10}H_{16}O_9NS_2K$ (397,3)	Ber. C	30,20	H	4,03	N	3,52%
	Gef. „	29,91	„	4,11	„	3,57%

Die Messung der *optischen Drehung* ergab für $[\alpha]_D^{20} = -17,0^\circ$; 200 mg Substanz wurden in 10 cm^3 Wasser gelöst. $\alpha_D^{20} = -0,34^\circ$, $d = 1$ dm.

Als wichtiges Argument für die Identität des Meerrettichglykossids mit Sinigrin, bei dem es sich nach *Gadamer* um das Kaliumsalz der Myrönsäure folgender Konstitution:



handelt, erscheint uns die enzymatische Spaltung der Meerrettichsubstanz mit Myrosinase aus Samen des weissen Senfs, wobei sofort der intensive, scharfe, zu Tränen reizende Geruch nach Meerrettich auftritt. In der Lösung kann nach Beendigung der enzymatischen Spaltung Schwefelsäure und Glucose nachgewiesen werden.

Zusammenfassung.

Sowohl die Beobachtungen bei der fermentativen Spaltung als auch die Werte der Elementaranalyse, des Schmelzpunktes und der optischen Drehung und ein direkter Vergleich mit einem aus den Samen des schwarzen Senfs von uns hergestellten Präparates lassen keine Zweifel bestehen über die Identität der genuinen, krystallisierten Muttersubstanz des Meerrettichöls mit Sinigrin.

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium „Sandoz“, Basel.