

385. Wilhelm Schneider und Wilhelm Lohmann: Untersuchungen über Senföle; das Cheirolin-glykosid¹⁾.

[Mitteilung aus dem I. Chemischen Institut der Universität Jena]

(Eingegangen am 1. Oktober 1912.)

Vor zwei Jahren zeigte der eine von uns²⁾, daß das Cheirolin von Ph. Wagner³⁾ ein Sulfonsenföl von der Konstitution des [γ -Thiocarbimido-propyl]-methyl-sulfons, $\text{CH}_3 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NCS}$, ist. In jener Arbeit war schon vermutet worden, daß das Cheirolin in der Pflanze als Glykosid enthalten sei, aus dem es durch Enzymwirkung abgespalten wird. In der Mitteilung über Cheirolin ist schon eine aus dem Goldlacksamen darstellbare, Kalium und Schwefel enthaltende Verbindung erwähnt, in der das gesuchte Glykosid vermutet wird.

Auf verhältnismäßig einfachem Wege, nämlich durch Extraktion des entfetteten Goldlacksamens mit möglichst wasserfreiem Alkohol, gelingt es eine Substanz mit Glykosidcharakter zu gewinnen, die das Cheirolin in gebundenem Zustand enthält. Leider waren bisher alle Versuche, sie zu reinigen, infolge ihrer unangenehmen Löslichkeitsverhältnisse und geringen Krystallisationskraft nur von geringem Erfolg begleitet. Immerhin ergab die Elementaranalyse der rohen Substanz im Vergleich zu jener der umkrystallisierten einige wichtig Fingerzeige. Da die Elemente Schwefel, Stickstoff und Kalium als wesentliche Bestandteile des Cheirolin-glykosids anzusehen sind, wurde nur auf ihre Bestimmung Wert gelegt. Durch die Reinigung stieg der Gehalt an diesen 3 Elementen ziemlich gleichmäßig an, und zwar standen die gefundenen Mengen stets annähernd im Verhältnis $\text{S}_2 : \text{N}_2 : \text{K}$.

Da es sich zunächst darum handelte, die Anwesenheit des Cheirolin-glykosids in der erwähnten Substanz erst einmal festzustellen, wurden die dazu dienenden Versuche, wie Hydrolyse, enzymatische Spaltung usw. vorläufig mit der rohen Substanz ausgeführt.

Der Schwefel des Glykosids liegt in drei verschiedenen Formen vor und zwar 1. als Schwefelsäurerest, 2. als Senfölschwefel und 3. als Sulfonschwefel. Die Schwefelsäure ist im Cheirolin-glykosid anscheinend ganz analog gebunden wie im Sinigrin und im Sinalbin. Die wäßrige Lösung des Glykosids, mit Chlorbarium versetzt, liefert keinen Niederschlag. Erst wenn man nach Zusatz von

¹⁾ Vergl. bezüglich näherer Einzelheiten die Dissertation von Wilhelm Lohmann, Jena 1912.

²⁾ W. Schneider. A. 375, 207 [1910].

³⁾ Ch. Z. vom 22. I. 1908, S. 76.

Salzsäure längere Zeit kocht, scheidet sich unter Entweichen von Schwefelwasserstoff ein Drittel des Gesamtschwefels als Bariumsulfat aus. Der bei der Verseifung entweichende Schwefelwasserstoff entstammt offenbar dem Thiocarbimid-Schwefel des Cheirolins. Er wird auch beim Kochen des Glykosids mit alkalischer Bleilösung als Bleisulfid abgeschieden. Wenn diese Auffassung richtig war, mußte auch der Sulfonschwefel des Cheirolins nachweisbar sein. In der Tat gelang es nach Behandlung des Glykosids mit roter rauchender Salpetersäure bei 200°, ein weiteres Drittel des Gesamtschwefels als methylsulfonsaures Barium zur Wägung zu bringen. Danach ließ sich der Gehalt des Rohglykosids an Cheirolin zu etwa 19% berechnen.

Die Isolierung des Cheirolins selbst gelang durch enzymatische Spaltung des Glykosids mit Hilfe des Myrosins aus weißem Senf. Ein Vorversuch hatte gezeigt, daß im Goldlacksamen ein Enzym vorhanden ist, das das Sinigrin des schwarzen Senfs unter Senfölbildung zu spalten vermag, somit also dem Myrosin gleichwertig, wenn nicht mit ihm identisch ist. Das enzymatisch aus dem Rohglykosid abgespaltene Cheirolin war infolge experimenteller Schwierigkeiten nicht quantitativ isolierbar. Es wurden etwa 50% der Menge erhalten, die nach dem Gehalt an Sulfonschwefel darin vorhanden sein mußte.

Die Spaltung des Cheirolin-glykosids durch Myrosin ist ein neuer Hinweis auf die Analogie, welche zwischen ihm und den Senfölglykosiden Sinigrin und Sinalbin besteht. Auch haben wir hier wieder einen Beweis dafür, daß botanisch verwandte Pflanzen wie Goldlack und die Senfarten auch in chemischer Beziehung diese Verwandtschaft aufweisen. An dieser Stelle sei erwähnt, daß wir bei der Suche nach dem Vorkommen anderer Sulfonsenföle in der Cruciferen-Familie auch in Blumenkohlsamen die Anwesenheit von Allylsenföl und von Myrosin feststellten.

Der Zuckergehalt des Cheirolin-glykosids wurde auf zwei Wegen nachgewiesen. Nach Hydrolyse des Glykosids durch verdünnte Säuren konnte aus der Reaktionslösung in geringer Menge das Glucosazon gewonnen und durch Krystallform und Schmelzpunkt identifiziert werden. Eine bequemere Methode lieferte das Verhalten des Glykosids gegen Silbernitrat, das dem des Sinigrins ganz ähnlich ist. Dieses wird bekanntlich durch Silbernitrat unter Bildung von Glucose, Kaliumnitrat, Salpetersäure und Senfölsilbersulfat,



gespalten. Auch beim Versetzen einer wäßrigen Lösung des Cheirolin-glykosids mit Silbernitrat tritt allmählich Abscheidung eines schwer löslichen Silbersalzes ein, während die Lauge saure Reaktion annimmt. Die Silberverbindung hat die dem Senfölsilbersulfat analoge

Zusammensetzung $C_5H_9O_2NS_2, Ag_2SO_4$, enthält also die Komponenten Cheirolin und Silbersulfat und soll deshalb entsprechend als *Cheirolin-silbersulfat* bezeichnet werden, wiewohl es sich hier ebensowenig um ein einfaches Doppelsalz handeln wird wie beim Allylsenfölsilbersulfat. Aus dem Filtrat dieser Silberverbindung ließ sich in besserer Ausbeute ein Osazon gewinnen, das nach Schmelzpunkt, optischem Drehungsvermögen und Analyse sich als Glucosazon erwies.

Die vorliegende Untersuchung zeigt zur Genüge, daß die aus dem Goldlacksamen in der beschriebenen Weise darstellbare Substanz das Glykosid des Cheirolins in verunreinigter Form ist. Das Glykosid weist in seiner chemischen Natur eine weitgehende Analogie mit den anderen Senfölglykosiden auf, und bisher konnten als seine Bestandteile Cheirolin, Glucose, Schwefelsäure und Kalium festgestellt werden. Ob es außer diesen noch andere Bestandteile enthält, muß die weitere Untersuchung lehren. Vor allen Dingen soll versucht werden, das Cheirolin-glykosid in völlig reiner Form zu gewinnen und seine Elementarzusammensetzung zu ermitteln.

Experimenteller Teil.

Darstellung und Eigenschaften des rohen Cheirolin-glykosids.

Feingemahlener und entfetteter Goldlacksamen wird im Dampftrockenschrank 24 Stunden lang getrocknet und in Portionen von je 170 g am Soxhlet mit möglichst wasserfreiem (frisch über Natrium destilliertem) Alkohol extrahiert. Die ersten stark gefärbten Anteile des Extraktes werden verworfen. Dann wird mit etwa 1 l Alkohol 5—7 Stunden lang weiter extrahiert und der siedend heiße Extrakt filtriert. Beim Erkalten fällt das Glykosid als bräunlich-gelbes Pulver aus. Es wird abgesaugt, mit trockenem Alkohol ausgewaschen und sofort mit dem Trichter in einen Vakuumexsiccator über Schwefelsäure gebracht.

Das exsiccatorrockne Präparat bildet ein feines, anscheinend mikrokristallines, äußerst hygroskopisches Pulver. Es enthält noch 6—7% Alkohol gebunden (Krystallalkohol?), der im Vakuum über metallischem Natrium bei Wasserbadtemperatur entweicht. Einen deutlichen Schmelzpunkt besitzt es nicht. In Wasser löst sich dieses Rohprodukt spielend leicht, jedoch nicht vollkommen klar. In Äther und Ligroin ist es unlöslich, in siedendem Alkohol nur wenig löslich. Die klar filtrierte wäßrige Lösung reagiert schwach sauer. Sie verhält sich wie ein Indicator, die bräunliche Farbe schlägt beim geringsten Zusatz von Alkali in ein grünstichiges Gelb um und nimmt beim Ansäuern den ursprünglichen Ton wieder an. Zusatz von starker

Salpetersäure ruft eine nach einiger Zeit verschwindende Rotfärbung hervor. Die beiden letzten Eigenschaften stimmen merkwürdigerweise mit denen des Sinalbins, des Glykosids des weißen Senfs überein. Beim Veraschen hinterläßt die Substanz fast reines Kaliumsulfat als Rückstand. Die Glykosidlösung liefert mit Bariumchlorid in der Kälte keine Schwefelsäurereaktion. Kocht man sie dagegen einige Zeit mit Barytwasser, so scheidet sich allmählich Bariumsulfat ab. Die Schwefelsäure scheint demnach in dem Glykosid in Form eines Esters gebunden zu sein. Mit alkalischer Bleilösung erhitzt, scheidet die Glykosidlösung Bleisulfid ab. Beim Erwärmen mit Alkali oder mit Säuren wird Schwefelwasserstoff abgespalten. Cheirolin ist als solches in der Lösung des Glykosids nicht vorhanden, denn nach Versetzen mit Ammoniumsulfat kann ihr durch Äther kein Senföl entzogen werden. Da sich einer weiteren Reinigung des Glykosids sehr große, bisher nicht überwundene Schwierigkeiten entgegenstellten, wurde es schon als alkoholfreies Rohprodukt analysiert, um die Änderung der Zusammensetzung bei den Reinigungsversuchen verfolgen zu können.

0.2676 g Sbst.: 0.1954 g BaSO₄. — 0.2014 g Sbst.: 0.1442 g BaSO₄. — 0.2065 g Sbst.: 0.1500 g BaSO₄. — 0.3540 g Sbst.: 9.0 ccm N (19°, 743 mm). — 0.2334 g Sbst.: 0.0182 g K₂SO₄.

Gef. S 10.03, 9.84, 9.98, N 2.90, K₂SO₄ 7.80.

Der Aschenrückstand wurde mit Schwefelsäure abgeraucht, wobei das Gewicht konstant blieb. Er erwies sich als reines Kaliumsulfat.

Zur weiteren Reinigung des Glykosids wurde es in Wasser gelöst und von den ungelösten, amorphen, braunen Flocken filtriert. Der ungelöste Anteil beträgt etwa 2.6% und ist frei von Schwefel. Das klare Filtrat wurde unter Zusatz von Glaspulver zur Trockne gedampft, der Rückstand fein zerrieben und mehrere Stunden lang mit absolutem Alkohol ausgekocht. Aus dem filtrierten Alkohol fiel beim Erkalten das Glykosid in nur wenig veränderter Form und in sehr schlechter Ausbeute (etwa $\frac{1}{10}$ der angewandten Menge) wieder aus. Eine weitere Reinigung ließ sich trotz angestrebter Bemühungen bisher nicht erzielen. Die Zusammensetzung des etwas heller gefärbten, gereinigten Produktes in alkoholfreiem Zustande war nur wenig verschieden von der des Rohproduktes.

0.1976 g Sbst.: 0.1698 g BaSO₄. — 0.2525 g Sbst.: 6.4 ccm N (20°, 749 mm). — 0.2166 g Sbst.: 5.8 ccm N (15°, 750 mm). — 0.3088 g Sbst.: 0.0304 g K₂SO₄.

Gef. S 12.08, N 2.92, 3.13, K₂SO₄ 4.41.

Das Verhältnis von Schwefel zu Stickstoff und Kalium entspricht annähernd den Atomverhältnissen S₂:N₂:K.

Zu den folgenden Versuchen wurde das Rohprodukt verwandt.

Einwirkung von Säuren.

Kocht man das Glykosid mit verdünnten Säuren, so läßt sich mit Hilfe der Fehlingschen Probe ein Zuckergehalt infolge des sich bildenden CuS

nicht nachweisen. Erst wenn man den Schwefelwasserstoff vorher mit Kupfersulfat entfernt, ist beim Kochen der klar filtrierte und neutralisierte Flüssigkeit mit Fehlingscher Lösung kurze Zeit das Auftreten von rotem Kupferoxydul zu beobachten, doch bald wird durch das Alkali wieder Schwefelwasserstoff abgespalten, der neues Schwefelkupfer bildet.

Einwandfrei ist der durch Kochen mit Säuren abgespaltene Zucker nachweisbar in Form seines Osazons. 2.5 g Glykosid wurden mit 200 ccm 5-prozentiger Salzsäure bis zum Aufhören der Schwefelwasserstoffentwicklung gekocht. Die von harzigen Massen abfiltrierte, dunkle Lösung wurde neutralisiert und mit essigsäurem Phenylhydrazin erwärmt. Nach kurzer Zeit bildete sich ein dunkler, amorpher Niederschlag, von dem abfiltriert wurde. Bei weiterem Erwärmen schied sich dann ein gelbes Osazon in Nadelchen ab, das bei 204° schmolz und die charakteristische Krystallform des Glucosazons besaß.

Während, wie erwähnt, das Glykosid mit Bariumchloridlösung keinen Niederschlag von Bariumsulfat gibt, bildet sich ein solcher allmählich beim Kochen in Gegenwart von Salzsäure. Die klare wäßrige Glykosidlösung wurde mit Chlorbarium und etwas konzentrierter Salzsäure versetzt und bis zum Aufhören der Schwefelwasserstoff-Entwicklung gekocht. Die Menge des entstandenen Bariumsulfats entsprach etwa einem Drittel des Gesamtschwefels.

0.6585 g Sbst: 0.1444 g BaSO₄.

Ber. S 3.34. Gef. S 3.00.

Einwirkung von Silbernitrat.

8 g Glykosid wurden in wenig Wasser gelöst und mit überschüssiger konzentrierter Silbernitratlösung versetzt. Es fiel bald ein grauer Niederschlag aus, der sich nach kurzer Zeit am Licht schwarz färbte. Nach etwa einer Stunde wurde abfiltriert und das Filtrat im Dunkeln stehen gelassen. Am anderen Morgen war neues Silbersalz von hellgrauer Farbe ausgefallen. Dieses wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Exsiccator unter Lichtabschluß für die Analyse getrocknet. Erst nach einigen Tagen hörte die Abscheidung vollständig auf. Das Filtrat des Silbersalzes reagierte stark sauer. Zur Neutralisation waren 8.2 ccm ⁿ/₁-Natronlauge erforderlich. Eine Probe der Lösung wurde mit Salzsäure von überschüssigem Silbernitrat befreit, neutralisiert und mit Fehlingscher Lösung erwärmt. Es trat ein roter Kupferoxydul-Niederschlag auf, der aber bald durch sich abscheidendes Schwefelkupfer verdeckt wurde. Die Hauptmenge der Lösung wurde mit 2 g in der berechneten Menge 50-prozentiger Essigsäure gelöstem Phenylhydrazin versetzt. Der in der Kälte entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und die Lösung erwärmt. Nach kurzer Zeit schied sich das Osazon ab. Es war stark verunreinigt,

ließ sich aber durch Auskochen mit Wasser und Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol leicht reinigen. Die Ausbeute an reinem Osazon betrug etwa 0.6 g. Es schmolz bei 205—206°.

Zur optischen Identifizierung wurde es nach C. Neuberg¹⁾ polarimetrisch untersucht. Nach nochmaliger Reinigung durch Lösen in Pyridin und Ausfällen mit Ligroin wurden 0.0266 g Osazon in 29 ccm eines Pyridin-Alkohol-Gemisches gelöst. Diese Lösung zeigte eine Linksdrehung von 0.17°. Eine Vergleichslösung von 0.0280 g Glucosazon ergab eine Drehung von 0.18°. Nach Neuberg berechnet sich für eine Glucosazonlösung unserer Konzentration 0.187°. Auch der Stickstoffgehalt unseres Osazons entsprach dem des Glucosazons.

0.1594 g Sbst.: 21.6 ccm N (19°, 747 mm).

$C_{18}H_{22}O_4N_4$. Ber. N 15.64. Gef. N 15.57.

Das aus dem Glykosid mit Silbernitrat entstandene hellgraue Silbersalz ist lichtempfindlich und in Wasser unlöslich. Es besitzt die Zusammensetzung $C_5H_9O_2NS_2, Ag_2SO_4$, enthält also die Komponenten Cheirolin und Silbersulfat und wäre danach als Cheirolin-silbersulfat zu bezeichnen.

0.1748 g Sbst.: 0.2486 g $BaSO_4$. — 0.1502 g Sbst.: 0.0856 g AgCl.

$C_5H_9O_6NS_3Ag_2$. Ber. S 19.55, Ag 43.98.

Gef. » 19.54, » 42.89.

Einwirkung von Enzymen.

a) Wirkung von Goldlacksamen und anderen Cruciferensamen auf schwarzen Senf.

Schwarzes Senfmehl wurde in siedendes Wasser eingetragen und dadurch das darin enthaltene Myrosin abgetötet. Nach dem Erkalten blieb der Samenschlamm geruchlos. Auf Zusatz von frisch zermahlenem Goldlacksamen trat nach kurzer Zeit intensiver Senfölgeruch auf. Bekanntlich wirkt weißes Senfmehl in gleicher Weise. Gelegentlich früherer Untersuchungen über das Vorkommen von Cheirolin oder anderen noch unbekanntem Sulfonsenfülen in der Cruciferenfamilie, hatten wir auch im Blumenkohlsamen die Anwesenheit von Allylsenfölen nachweisen können. Hiernach war in dieser Samenart das Vorkommen von Myrosin wahrscheinlich. In der Tat übte ein Zusatz von zermahlenem Blumenkohlsamen auf den wie oben erwähnt dargestellten Samenschlamm aus schwarzem Senf eine analoge Wirkung aus wie weißer Senf und Goldlacksamen. Nur war sie sehr schwach.

¹⁾ B. 32, 3384 [1899].

b) Wirkung von Myrosin aus weißem Senfsamen auf
das Cheirolin-glykosid.

Der klare, wäßrige Auszug aus 200 g weißem Senfmehl wurde durch Zusatz des gleichen Volumens Alkohol ausgefällt. Der abfiltrierte, ausgewaschene Niederschlag wurde dreimal mit Äther zur Entfernung mitgerissenen Sinalbin-Senföls ausgeschüttelt und dann hieraus der wäßrige, myrosinhaltige Auszug hergestellt. Der Äther hinterließ nicht unwesentliche Mengen Sinalbin-Senföl. Die sauer reagierende Enzymlösung wurde nun neutralisiert und mit einer Lösung von 9 g Glykosid versetzt. Die durch die Spaltung des Glykosids auftretende freie Säure wurde nach dem Vorgange von Gadamers¹⁾ anfangs von 10 zu 10 Minuten, später in größeren Pausen abgestumpft. Eine genaue Bestimmung der abgespaltenen Säuremenge ließ sich wegen der starken Farbe der Lösung nicht durchführen. Nach zwei Tagen wurde die Lösung mit Ammonsulfat gesättigt und zweimal ausgeäthert. Der Äther hinterließ 0.9 g eines schweren Öles, das beim Animpfen mit einer Spur Cheirolin sofort krystallinisch erstarrte. Die Ausbeute betrug 52.6 % der Cheirolinmenge, die nach der weiter unten zu besprechenden Bestimmung der Methylsulfonsäure im Glykosid vorhanden sein muß. Nach dem Behandeln der ätherischen Lösung der erhaltenen Krystallmasse mit Tierkohle krystallisierten große, rhombische Tafeln aus, die in ihrem Aussehen Cheirolinkrystallen glichen und auch den Schmelzpunkt des Cheirolins von 47° zeigten. Bei einer Mischprobe mit Cheirolin blieb der Schmelzpunkt derselbe.

0.1201 g Sbst.: 0.3135 g BaSO₄.

C₅H₉O₂NS₂. Ber. S 35.75. Gef. S 35.86.

Einwirkung von roter, rauchender Salpetersäure auf
das Glykosid.

5.8 g Glykosid wurden zuerst mehrmals mit roter, rauchender Salpetersäure auf dem Wasserbade eingedampft, dann im Rohr unter Zusatz von neuer Salpetersäure etwa zwei Stunden lang auf 190°—200° erhitzt. Der Rohrinhalt wurde mehrmals mit Wasser auf dem Wasserbade eingedampft und [die hinterbleibende schwere Flüssigkeit mit Alkohol digeriert. Es schied sich eine farblose Krystallmasse ab, die aus Kaliumbisulfat bestand.

0.5782 g Sbst.: 0.9760 g BaSO₄.

KHSO₄. Ber. S 23.53. Gef. S 23.19.

¹⁾ Ar. 235, 57—63 [1897].

Der alkoholische Extrakt wurde eingedampft, mit Wasser aufgenommen und die stark saure Lösung in der Siedehitze mit einer Lösung von 6 g Baryt versetzt. Der überschüssige Baryt wurde durch Kohlensäure gefällt und die Lösung dann von dem gesamten Sulfatcarbonat-Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde zur Trockne gedampft und mit kaltem Wasser gut ausgelaugt. Außer ein wenig Bariumcarbonat hinterblieben einige gelbe Flocken von wahrscheinlich nicht vollständig verbrannten Bestandteilen des Glykosids. Die klare, wäßrige Lösung des Bariumsalzes wurde nun mit dem 8-fachen Volumen Alkohol versetzt. Es fiel ein farbloser Niederschlag aus, der sich nach einiger Zeit in Form von feinen Blätchen am Boden absetzte. Das rohe, methan-sulfonsaure Barium wurde durch nochmaliges Lösen in Wasser und Fällern mit Alkohol gereinigt. Nach dem Trocknen bei 110° betrug die Ausbeute an diesem Salz 1.00 g. Dieser Menge entsprechen 1.10 g Cheirolin, die in den angewandten 5.8 g Glykosid enthalten sein mußten, d. h. also 19 %.

0.0888 g Sbst.: 0.0628 g BaSO₄ (Ba-Best.). — 0.0744 g Sbst.: 0.1054 g BaSO₄ (S-Best.).

(CH₃.SO₃)₂Ba. Ber. Ba 41.98, S 19.57.
Gef. » 41.62, » 19.46.

386. Wilhelm Schneider: Untersuchungen über Senföle; Allylimino-thiolkohlen-säure-diäthylester.

[Mitteilung aus dem I. Chemischen Institut der Universität Jena.]

(Eingegangen am 1. Oktober 1912.)

Die Senfölglykoside leiten sich nach den Untersuchungen Gadamers¹⁾ höchstwahrscheinlich ab von einer hypothetischen Allylimino-thiolkohlen-säure der allgemeinen Formel R.N:C(SH)(OH). So besitzt z. B. Sinigrin (auch myronsaures Kalium genannt) nach Ansicht Gadamers die durch untenstehende Formel I ausgedrückte Konstitution einer Allylimino-thiolkohlen-säure, deren Hydroxyl mit einem Säurerest — Kaliumbisulfat — verestert und deren Sulphydryl mit Zucker — Glucose — ätherartig verknüpft erscheinen.

Ein Hauptstützpunkt für diese Auffassung ist für Gadamer die Tatsache, daß das Sinigrin bei der Behandlung mit Silbernitrat neben Glucose, Kaliumnitrat und freier Salpetersäure Senfölsilbersulfat liefert, dem er die Konstitution II zuschreibt.



¹⁾ Ar. 285, 47 ff. [1897]; B. 30, 2322, 2328 [1897].