

CHROM. 8095

Note

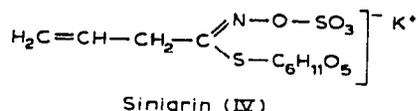
TAS⁺-Verfahren zur Analyse der Inhaltsstoffe von Senfsamen **

FRANZ KARIG

Fachrichtung Pharmakognosie und Analytische Phytochemie der Universität Saarbrücken, D-66 Saarbrücken 11 (B.R.D.)

(Eingegangen am 13. November 1974)

Der Hauptinhaltsstoff der Samen von *Sinapis alba* L. (Weisser oder Gelber Senf) ist das Senfölglycosid Sinalbin (I), das aus einem Anionenteil (Thioglycosid) und einem Kationenteil (Sinapin) besteht. Die Samen des Schwarzen Senf (von *Brassica nigra* (L.) Koch) enthalten Sinapin frei neben dem Senfölglycosid Sinigrin (IV).



In Fortführung früherer Untersuchungen zur Thermolyse von glycosidischen Drogeninhaltsstoffen (z.B. Arbutin²; Picrocrocin³; Glycoside von Cumarinen⁴ und Tanninen⁵) wurde das TAS-Verfahren zur Charakterisierung von Senfsamen eingesetzt².

EXPERIMENTELLES UND ERGEBNISSE

Die zur Untersuchung notwendige Menge an Probenmaterial (meist wenige Milligramm) wird in ein Ganzglassystem, die TAS-Patrone, gebracht und in einem entsprechend vorgeheizten Ofenblock rasch auf die Thermolysetemperatur erhitzt. Die flüchtigen Substanzen, einschliesslich der thermolytisch gebildeten, werden als Dampfstrahl direkt auf den Startbereich der Dünnschichtchromatographie (DC)-Schicht transportiert und am Sorptionsmittel kondensiert. Solche "Thermoextraktionen" sind innerhalb 1-2 min vollendet und schliessen Verunreinigungen aus, die durch Lösungsmittel etc. eingeschleppt werden können.

Als Basis für die Wahl der TAS-Ofentemperatur dienten die Thermofraktogramme, die lückenlos den Verlauf der Thermolyse im linear ansteigenden Temperaturgradient durch die Thermolyseprodukte anzeigen⁶. Als Treibmittel für die TAS-Abtrennungen wurde Molekularsieb in Kugelform (Durchmesser 2 mm, Porendurchmesser 4 Å) benutzt, welches das adsorbierte Wasser in Dampfform über einen

* Thermomikro Abtrenn- und Applikations.

** Die Anregung zu diesem Thema verdanke ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr.h.c. Egon Stahl.

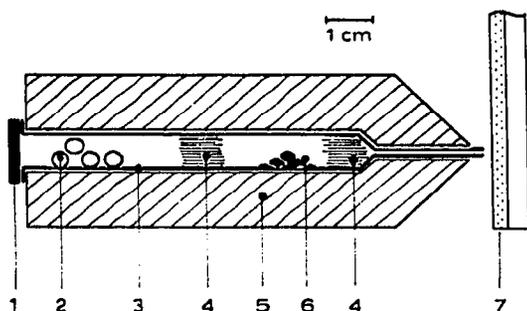


Fig. 1. TAS-Ofen (Schnitzzeichnung nach Lit. 2). 1 = Siliconabdichtung mit HD-Clip; 2 = Treibmittel; 3 = TAS-Patrone; 4 = Quarzwatte; 5 = Ofenblock; 6 = Probe; 7 = DC-Schicht.

längeren Zeitraum abgibt als z.B. Stärke oder inaktiviertes Silikagel^{7,*}. Die Notwendigkeit zum Einsatz von Treibmittel wurde in entsprechenden Vorversuchen bestätigt; die Ausbeuten an Thermolyseprodukten stiegen bei der Entwicklung von Wasserdampf aus der Probe bzw. aus dem zugesetzten Treibmittel stark an.

Aus den Thermofraktogrammen und entsprechenden TAS-Versuchen ergab sich, dass die Reinsubstanzen bei 250° innerhalb von 100 sec sauber gespalten werden können. Aus Sinapinsäure und Sinapin (Fig. 2) entsteht durch Decarboxylierung das

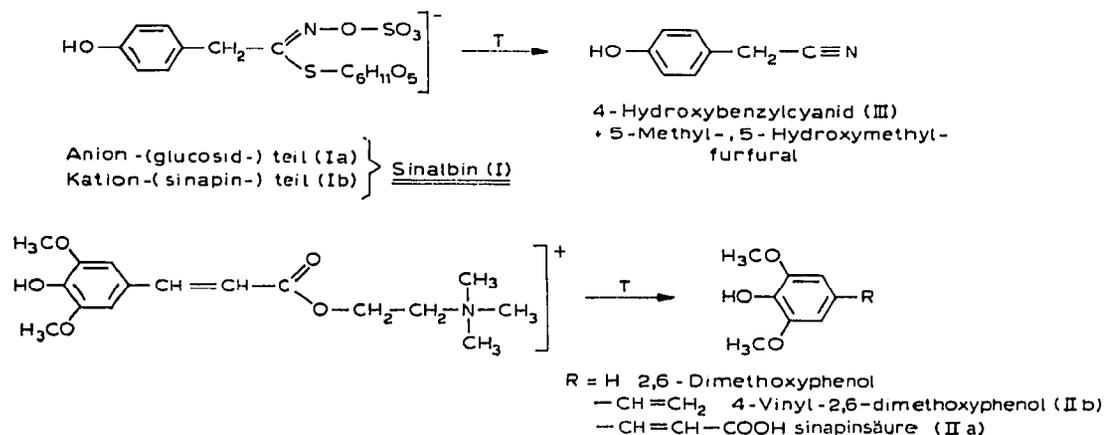


Fig. 2. Fragmentierungsschema von Sinabin unter TAS-Bedingungen.

4-Vinyl-2,6-dimethoxyphenol. Aus dem Thioglucosidanteil von Sinabin und Sinigrin werden, wie auch aus Glucose, 5-Methyl- und 5-Hydroxymethylfurfural gebildet. Darüberhinaus entsteht aus Sinabin eine phenolisch reagierende Substanz, die als 4-Hydroxybenzylcyanid identifiziert wurde. Das analoge Allylcyanid aus Sinigrin konnte auf der DC-Schicht nicht erfasst werden.

Die Identifizierungen bzw. Nachweise erfolgten durch die üblichen Methoden

* Fa. Riedel-deHaen, Seelze/Hannover, B.R.D.

auf der DC-Schicht, durch UV-, IR- und Massenspektroskopie und Vergleich mit authentischen Substanzen.

Aus Drogenproben von Weissem Senf trat 4-Hydroxybenzylcyanid ebenfalls auf, erkennbar an der Fluoreszenzminderung im kurzwelligen UV-Licht (254 nm). Dadurch wurde der Nachweis selbst bei Probenmengen von etwa 10 mg (entsprechend zwei Samenkörnern) ermöglicht. Störungen durch andere Thermolyseprodukte aus dem Drogenmaterial zwangen zur Ausarbeitung geeigneter Trenn- und Nachweisverfahren. Diese sind nachstehend in Form einer Arbeitsvorschrift mit Auswertung angegeben.

Arbeitsvorschrift

10 mg gequetschte Senfsamen (zwei Körner bei Weissem, vier bis fünf Körner bei Schwarzem Senf) wurden eingewogen. Das Treibmittel war etwa 100 mg Molekularsieb 4 Å mit 20% Wasser. Es wurde der TAS-Ofen nach Stahl mit Zubehör (Desaga, Heidelberg, B.R.D.) benutzt.

In die Glaspatrone wird zunächst ein Quarzwattebausch, dann die Drogenprobe, ein weiterer Wattebausch und schliesslich das Treibmittel gegeben. Die Patrone wird mit dem HD-Clip dicht verschlossen.

Die Ofentemperatur war 250° und die Verweilzeit 100 sec.

Das Schichtmaterial war Kieselgel GF₂₅₄ (E. Merck, Darmstadt, B.R.D.), Ausstreichdicke 250 µm; das Fliessmittel war Chloroform-Äthanol (96:4); Laufstrecke 10 cm, bei Kammersättigung.

Detektion fand statt unter UV-Licht 254 nm (D1); mit Echtblausalz B-Reagens, ca. 5% in Wasser (Reagens-Nr. 91 in Lit. 8), Bedampfen der Schicht mit Ammoniak (25%) bis zur schwachen Braunfärbung des Untergrundes, dann Nachsprühen mit wenig konzentrierter Salzsäure⁵ (D2); mit Chloranil-Reagens, 1% in Methanol (Reagens-Nr. 28 in Lit. 2), Bedampfen mit Ammoniak (25%) bis zur optimalen Farbbildung (D3).

Als Vergleichssubstanzen dienten Brenzcatechin und Phenol in je 1% Lösung in Methanol. Die Auftragemenge war 1 µl.

Die UV-Spektren wurden mit dem Spektralphotometer PM 4 (Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, B.R.D.) aufgenommen (Quarzküvetten, 1 cm; Lösungsmittel, Methanol p.a.). Zur Aufnahme der IR-Spektren diente der Grating Infrared Spectrophotometer 257 (Fa. Perkin-Elmer, Überlingen, B.R.D.); die Proben wurden als Mikropresslinge in KBr vermessen. Zur Aufnahme der Massenspektren diente das Massenspektrometer CH 7 (Fa. Varian-MAT, Bremen, B.R.D.); Aufnahmedaten, 70 eV, 300 mA; Heizquelle, 100°.

Auswertung

Im hR_F -Bereich 65–75 tritt 4-Vinyl-2,6-dimethoxyphenol auf. Es ist erkennbar mit D1 an der Fluoreszenzminderung der Schicht, mit D2 ergibt es eine spontane Violett-färbung, die mit konzentrierter Salzsäure in Olivgrün umschlägt, mit D3 eine Gelbgrünfärbung. Das Auftreten dieser Substanz ist als wichtiger Hinweis auf die Identität der Drogen anzusehen, da Sinapin im Weissen und Schwarzen Senf in relativ grossen Mengen zu finden ist.

Im hR_F -Bereich 25–35, zwischen den Zonen der Vergleichssubstanzen Phenol und Brenzcatechin, befindet sich die Zone von 4-Hydroxybenzylcyanid, erkennbar an

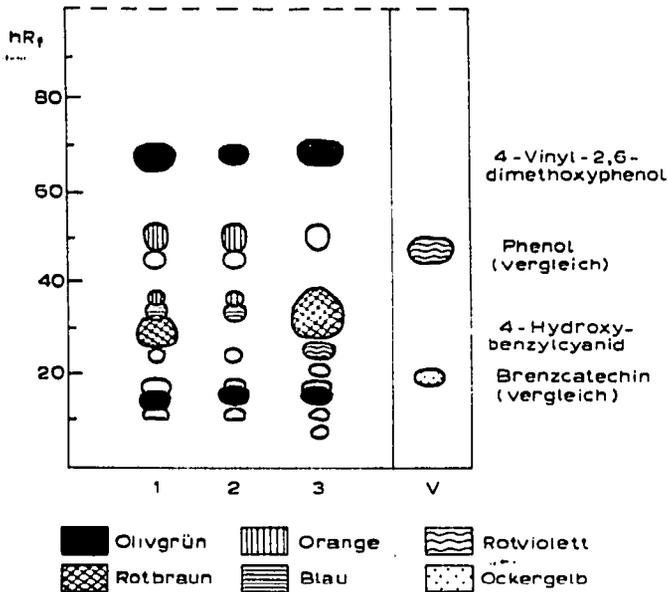


Fig. 3. Dünnschichtchromatogramm des Weissen und Schwarzen Senfs nach TAS-Aufragung. 1 = Weisser Senf; 2 = Schwarzer Senf; 3 = Sinalbin 0.5 mg; V = Vergleich. Bedingungen lt. Arbeitsvorschrift. Detektion, D2.

der Fluoreszenzminderung mit D1, seiner Braunrotfärbung mit D2 und Gelbgrünfärbung mit D3, die beim Lagern an der Luft nach etwa 10 min in Ockergelb auf farblosem Untergrund übergeht. Das Auftreten dieser Substanzzone beweist das Vorliegen von Sinalbin und damit von Samen des Weissen Senfs.

DANK

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 52 (Analytik), Saarbrücken, durchgeführt. Es sei an dieser Stelle für die Förderung mit Sachmitteln gedankt.

LITERATUR

- 1 J. Gadamer, *Arch. Pharm.*, 235 (1897) 92.
- 2 E. Stahl (Herausgeber), *Chromatographische und mikroskopische Analyse von Drogen*, Fischer, Stuttgart, 1970.
- 3 E. Stahl und C. Wagner, *J. Chromatogr.*, 40 (1969) 308.
- 4 E. Stahl und J. Brombeer, *Sci. Pharm.*, 41 (1973) 133.
- 5 E. Stahl und F. Karig, *Z. Anal. Chem.*, 265 (1973) 81.
- 6 E. Stahl, *Z. Anal. Chem.*, 261 (1972) 11.
- 7 E. Stahl und L. Hartmann, *Anal. Lett.*, 5 (1972) 377.
- 8 E. Stahl (Herausgeber), *Dünnschicht-Chromatographie*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 2. Aufl., 1967.