

# Enzymatische Darstellung und Eigenschaften einiger Desulfoglucosinolate

Enzymatic Preparation and Properties of Some Desulfoglucosinolates

Dagmar Rakow und Rolf Gmelin

Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin,  
Königin-Luisen-Straße 2–4, D-1000 Berlin 33

Werner Thies

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Göttingen,  
Von-Siebold-Straße 8, D-3400 Göttingen

Z. Naturforsch. **36 c**, 16–22 (1981); eingegangen am 20. Oktober 1980

Cruciferae, Glucosinolates, Desulfo-Glucosinolates, Glucosinolate Sulfohydrolase, Physical-Chemical Data

10 different desulfo-glucosinolates belonging to 9 different homologous series have been isolated from the parent glucosinolates by means of a glucosinolate sulfohydrolase from the edible snail *Helix pomatia*. They were characterized by the following physical-chemical data: molecular weight, melting point, wavelength of the absorption maximum in the UV-region, molar absorption coefficient at this maximum, angle of optical rotation and  $R_f$ -values (thin layer and paper chromatography).

## Einleitung

Den Glucosinolaten, über deren Chemie, Biogenese, Chemotaxonomie, enzymatische Reaktionen etc. inzwischen zahlreiche Übersichtsarbeiten [1–3] vorliegen, wird neuerdings wegen ihres Vorkommens in vielen Nutzpflanzen der Gattung *Brassica* wieder große Beachtung geschenkt. Sorten von *Brassica campestris* (Rüben) und *Brassica napus* (Raps) sind Nutzpflanzen von großer wirtschaftlicher Bedeutung, zumal ihre Samen reich an fetten Ölen, aber auch an hochwertigen Proteinen sind. Auch unter den mannigfaltigen Zuchtformen der *Brassica oleracea*-Arten (Kohl) finden sich wichtige Gemüse- und Futterpflanzen.

Wegen der pharmakodynamischen Wirkungen einiger enzymatischer Spaltprodukte (Reizwirkung von Isothiocyanaten auf die Schleimhäute des Magen-Darm-Trakts; thyreostatische und strumigene Wirkung von Oxazolidinthionen und von Rhodanid-Ionen) sind Glucosinolate in *Brassica*-Arten unerwünscht, vor allem in den proteinreichen Preßrückständen der Raps-Samen. Deshalb werden weltweit Züchtungsprojekte durchgeführt, deren Ziel die Erstellung von *Brassica*-Arten mit reduzierten Glucosinolat-Gehalten ist.

Für eine rasche und exakte Beurteilung der züchterischen Resultate kann die Gaschromatographie (GLC) eingesetzt werden. Die über Anionenaustauscher vorgereinigten und angereicherten Glucosinolat-Gemische werden per-trimethylsilyliert, d. h. in flüchtige Derivate überführt, die sich gaschromatographisch auftrennen und quantitativ bestimmen lassen. Wie Underhill und Kirkland [4] beobachteten und Thies [5] bestätigen konnte, entstehen bei dieser „Per-Trimethylsilylierung“ aus den genuinen Glucosinolaten unter Abspaltung eines Sulfat-Rests sogenannte Desulfo-Glucosinolate als Zwischenprodukte. Schon früher hatten Ettlinger und Mitarbeiter [6] einige durch Ammonolyse, Pyridinolyse oder Synthese erhaltene Desulfo-Glucosinolate beschrieben. Nagashima und Uchiyama [7] beobachteten später, daß Mollusken-Enzyme ebenfalls in der Lage sind, die Sulfat-Gruppe von Glucosinolaten abzuspalten, wobei unter milden Bedingungen ebenfalls Desulfo-Glucosinolate gebildet werden. Schraudolf und Weber [8] verwendeten Arylsulfatasen aus *Helix pomatia* zur Darstellung von Desulfo-Glucobrassicin und verwandten Desulfo-Indolglucosinolaten für Biogenese-Studien.

Thies [9] konnte inzwischen die ursprüngliche, „direkte“ GLC-Methode für die Analyse von Glucosinolaten optimieren, indem er die an DEAE-SEPHADEX-A 25 fixierten Glucosinolate bzw. Glucosinolat-Gemische „*in situ*“ mit gereinigter *Helix*

Reprint requests to Prof. R. Gmelin.

0341-0382/81/0100-0016 \$ 01.00/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

*pomatia*-Sulfatase hydrolysierte. Bei diesem Verfahren blieben die störenden Sulfat-Ionen am Anionenaustauscher zurück, während sich die mit Wasser eluierbaren Desulfo-Glucosinolat-Gemische nach Trocknung schonend derivatisieren und als Trimethylsilyl-Derivate gaschromatographisch erfassen ließen. Auch Heaney und Fenwick [10] bedienen sich kürzlich dieser modifizierten Methode zur GLC-Analyse von Glucosinolaten in Kulturformen von *Brassica oleracea*. Wir berichten in dieser Arbeit über Darstellung und Eigenschaften einiger Desulfo-Glucosinolate, die u. a. als reine Bezugssubstanzen für die GLC-Analytik verwendet werden können.

## Material und Methoden

### Geräte

Schmelzpunkt-Bestimmungsapparat nach Tottoli (Start bei 80 °C mit 4 °C/min) der Firma Büchi. UV-Spektrophotometer PMA II der Firma Carl Zeiss. IR-Spektrophotometer 297, Polarimeter 141 und Elementar-Analysator der Firma Perkin-Elmer.

### Chromatographie und Ionenaustausch

Chromatographie-Papier MN 214 der Firma Macherey-Nagel, D-5160 Düren. DC-Alu-Folien

Kieselgel 60 F<sub>254</sub> der Firma E. Merck, D-6100 Darmstadt 1. Ionenaustauscher Dowex 2 × 4 (50 mesh), Amberlite IR 120 und IR 4B (50 mesh) der Firma Serva, D-6900 Heidelberg. Sephadex-Austauscher DEAE-A-25 und QAE-A-25 der Firma Pharmacia, D-7800 Freiburg 1.

### Chemikalien

Arylsulfatase Typ H-1, Nr. S 9626 der Firma Sigma, D-8021 Taufkirchen.

### Enzymatische Darstellung von Desulfo-Glucosinolaten

Als Ausgangsmaterial dienten Glucosinolate, die mit Hilfe von Sephadex-Austauschern nach bekannten Methoden [3] aus Samen verschiedener Cruciferen und Capparidaceen (s. Tabelle I) isoliert wurden. Je ca. 4 g (ca. 10 mmol) Glucosinolat wurden in 200 ml 1/15 mol/l Acetatpuffer pH 5,8 gelöst. Der Lösung fügten wir 20–40 Units Arylsulfatase, 2 g MgCO<sub>3</sub> zur Neutralisation des entstehenden Hydrogensulfates und einige Tropfen Toluol zur Konservierung bei. Nach 1–2tägiger Inkubation bei Raumtemperatur war die enzymatische Spaltung beendet. Der zeitliche Verlauf der Hydrolyse ließ sich durch Dünnschicht- oder Papierchromatographie leicht verfolgen, da die weniger polaren Desulfo-Glucosinolate höhere *R<sub>F</sub>*-Werte aufwiesen als

Tab. I. Gegenüberstellung der Glucosinolate, deren Reindarstellung bisher durchgeführt werden konnte, die Pflanzen, aus deren Samen die Isolierung erfolgte, sowie die Herkunft des verwendeten Samenmaterials.

Trivialname	Systematischer Name *	Kation	Pflanzen, aus deren Samen die Isolierung erfolgte	Herkunft des Samenmaterials
Sinigrin	Allyl-	K <sup>+</sup>	<i>Brassica nigra</i> L., <i>Thlaspi arvense</i> L., <i>Alliaria officinalis</i> Andr.	5 1 1
Glucoiberin	3-Methylsulfinylpropyl-	K <sup>+</sup>	<i>Iberis amara</i> L.	2
Glucocheirolin	3-Methylsulfonylpropyl-	K <sup>+</sup>	<i>Cheiranthus cheiri</i> L.	3
Glucoconringiin	2-Hydroxy-2-methylpropyl-	K <sup>+</sup>	<i>Conringia orientalis</i> (L.)	1
Progoitrin	2-Hydroxybuten(3)yl-	Na <sup>+</sup>	<i>Brassica napus</i> L. "York Swede"	4
Epi-Progoitrin	2-Hydroxybuten(3)yl-	K <sup>+</sup>	<i>Crambe abyssinica</i>	7
Glucoapparin	Methyl-	K <sup>+</sup>	<i>Cleome spinosa</i> Jacq.	3
Glucotropaeolin	Benzyl-	TMA <sup>+</sup>	<i>Lepidium sativum</i> L.	2
Glucosinalbin	4-Hydroxybenzyl-	TMA <sup>+</sup>	<i>Sinapis alba</i> L.	5
Glucobarbarin	1-Hydroxy-1-Phenyläthyl-	K <sup>+</sup>	<i>Barbarea vulgaris</i> R. Br.	2
Gluconasturtiin	2-Phenyläthyl-	K <sup>+</sup>	<i>Nasturtium officinale</i> R. Br.	2
Glucoerucin	4-Methylthiobutyl-	K <sup>+</sup>	<i>Eruca sativa</i> Mill.	2
Glucobrassicin	3-Indolylmethyl-	TMA <sup>+</sup>	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>	6
Gluconapin	Buten(3)yl-	K <sup>+</sup>	<i>Brassica campestris</i> cv. <i>Trilocularis</i> "Yellow Sarson"	7

\* zu ergänzen ist die Gruppenbezeichnung „-Glucosinolat“

1 = eigene Sammlung; 2 = Firma Bornträger, D-6521 Offstein; 3 = Firma Benary, D-3510 Hann.-Münden; 4 = Gaze Seed Co., Ltd., 9 Buchanan St. John's, Nfld (Canada); 5 = Firma Caesar & Loretz, D-4010 Hilden; 6 = Marktware; 7 = überlassen von Dr. R. G. Fenwick, Norwich (England); TMA = Tetramethylammonium.

die entsprechenden Glucosinolate (s. Tabelle III). Danach wurde der Reaktionsansatz nach kurzem Aufkochen filtriert und das Filtrat mit 50 ml Amberlite IR 4 B (OH-Form) und mit 50 ml Amberlite IR 120 (H-Form) versetzt. Nach 1–2 Stunden kräftigen Rührens wurden die Austauscher abfiltriert und mit 50 ml 85% Äthanol gewaschen. Die wäßrigen und äthanolischen Filtrate wurden im Vakuum eingedampft und der Trockenrückstand mit heißem 96%igem Äthanol digeriert. Im Filtrat begannen sich beim Abkühlen (ggf. nach Zugabe von Äthylacetat) Kristalle auszuschneiden, die abgesaugt wurden. Aus den eingengten Mutterlaugen ließen sich zusätzliche Mengen an Desulfoglucosinolen gewinnen, so daß die Gesamtausbeute 30–40% betrug.

### Ergebnisse und Diskussion

Mit der o. g. Methode der enzymatischen Desulfurierung konnten wir aus 10 verschiedenen Glucosinolen die entsprechenden Desulfo-Derivate darstellen. Da es sich um Vertreter aus 9 verschiedenen homologen Reihen handelt, ist zu vermuten, daß alle annähernd 80 bisher bekannten Glucosinolate

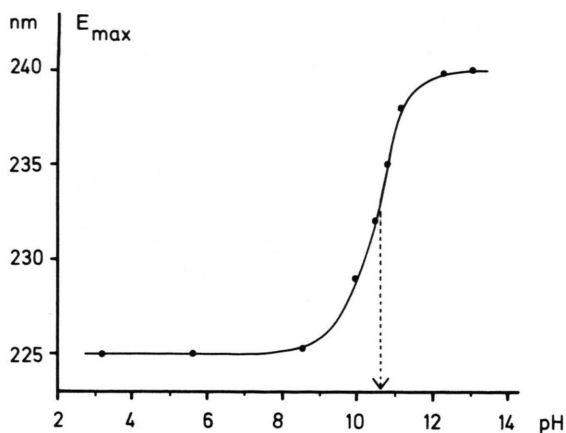


Abb. 1. Lage der Extinktionsmaxima von Desulfo-Sinigrin und Desulfo-Progoitrin in Abhängigkeit vom pH-Wert der wäßrigen Lösungen. Zu jeweils 1 ml 0,1 mol/l Glykokoll/NaOH-Puffer wurden 50 µl 3 mmol/l Desulfo-Sinigrin bzw. -Progoitrin hinzupipettiert.

durch die *Helix pomatia*-Sulfatase hydrolysiert werden können.

Einige der von uns ermittelten physikalisch-chemischen Daten sind in der Tabelle II zusammengestellt. Es ist zu erkennen, daß die Schmelzpunkte der DS-Glucosinolate im Vergleich zu denen der intak-

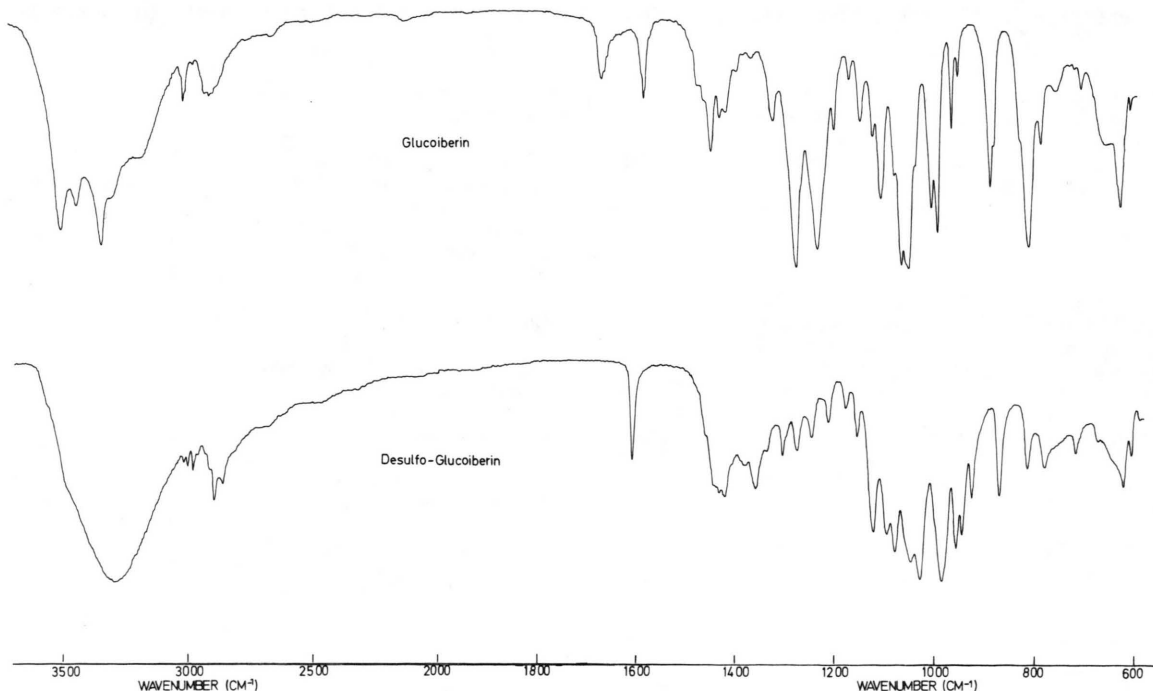


Abb. 2. IR-Spektren von Glucoiberin und Desulfo-Glucoiberin.

Tab. II. Physikalisch-chemische Daten einiger Desulfo-Glucosinolate. In Klammern: Schmelzpunkte der Glucosinolate.




Substanz	$\begin{array}{c} \text{N-OH} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C} \\ \diagdown \\ \text{S}-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5 \\ \text{R=} \end{array}$	Summen- Formel	MG	Fp [°C]	H <sub>2</sub> O $\lambda_{\text{max}}$ nm	$\varepsilon$ (in H <sub>2</sub> O)	lg $\varepsilon$ (in H <sub>2</sub> O)	Optische Drehung	Elementaranalyse		
									%N	%C	%H
a) DS-Sinigrin	CH <sub>2</sub> =CH-CH <sub>2</sub> -	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub> S + 1 H <sub>2</sub> O	297,33	98–102 (127–128)	226	5 680	3,754	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -37,5^\circ$ (c=1,5%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 4,7 gef.: 4,6	40,4 40,3	6,4 6,8
b) DS-Glucoiberin	CH <sub>3</sub> -SO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -	C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>7</sub> S <sub>2</sub>	343,42	196–198 (148–149)	224	5 696	3,756	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -82,1^\circ$ (c=1,5%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 4,1 gef.: 4,1	38,5 38,4	6,2 6,5
c) DS-Glucocheirolin	CH <sub>3</sub> -SO <sub>2</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -	C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>8</sub> S <sub>2</sub> + 1 H <sub>2</sub> O	377,44	107–110 (168)	225	5 318	3,726	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -25,4^\circ$ (c=1%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 3,7 gef.: 3,8	35,1 35,2	6,4 6,5
e) DS-Progoitritin	$\begin{array}{c} \text{CH}_2= \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{CH}_2- \\ \quad \quad \quad \text{OH} \end{array}$	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>7</sub> S	309,34	146–148 (135–140)	227	5 061	3,704	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -35,3^\circ$ (c=1%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 4,5 gef.: 4,7	42,7 41,9	6,2 6,6
f) DS-Epi-Progoitritin	$\begin{array}{c} \text{CH}_2= \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{CH}_2- \\ \quad \quad \quad \text{OH} \end{array}$	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>7</sub> S	309,34	157–160	227	5 067	3,705	$[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -34^\circ$ (c=0,75%; 48% EtOH)	ber.: 4,5 gef.: 4,2	42,7 42,9	6,2 6,6
g) DS-Gluco-capparin	CH <sub>3</sub> -	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub> S	253,27	210–215 (Lit.) (198)	222 (Lit.)	6 310	3,800	$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -43^\circ$ (c=1%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 5,5 gef.: —	37,9 —	6,0 —
h) DS-Gluco-tropaeolin	 -CH <sub>2</sub> -	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>6</sub> S + 1 H <sub>2</sub> O	347,39	111–113 (188–189)	230 (Schulter)	5 086	3,706	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -44^\circ$ (H <sub>2</sub> O; Lit.)	ber.: 4,0 gef.: 3,9	48,4 48,2	6,1 6,2
i) DS-Gluco-sin-albin	HO-  -CH <sub>2</sub> -	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>7</sub> S	345,37	140–143 (191–192)	226	11 311	4,054	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -45,6^\circ$ (c=0,8%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 4,1 gef.: 4,1	48,7 47,8	5,6 6,0
j) DS-Gluco-barbarin	 -CH-CH <sub>2</sub> -   OH	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>7</sub> S	359,39	125–128	228 (Schulter)	4 773	3,679	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -34,3^\circ$ (c=0,4%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 3,9 gef.: 3,7	50,1 50,0	5,9 6,5
l) DS-Gluco-erucin	CH <sub>3</sub> -S-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub> S <sub>2</sub>	341,44	78–80 (150–151)	222	5 873	3,769	$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -30,8^\circ$ (c=0,75%; H <sub>2</sub> O)	ber.: 4,1 gef.: 3,6	42,2 41,1	6,8 7,5

Tabelle III.  $R_f$ -Werte einiger Glucosinolate und der entsprechenden Desulfo-Glucosinolate.

	Dünnschicht-Chromatographie				Papierchromatographie	
	<i>n</i> -Butanol	3	<i>n</i> -Butanol	4	<i>n</i> -Butanol	4
Fließmittel (die Zahlen geben die Volumen-Anteile der Komponenten an)	<i>n</i> -Propanol	1	Essigsäure	1	Essigsäure	1
	Essigsäure	1	Wasser	2	Wasser	2
	Wasser	1				
Nachweisreagenz	$R_2$ : Thymol/ $H_2SO_4$				$R_1$ : $AgNO_3/NH_4OH$	
aufgetragene Substanzmengen	0,1–1 $\mu g$				1–10 $\mu g$	
Sinigrin	0,26		0,15		0,19	
a) DS-Sinigrin	0,52		0,51		0,55	
Glucobrassicin	0,09		0,06		0,10	
b) DS-Glucobrassicin	0,22		0,19		0,32	
Glucocheiralin	0,16		0,08		0,12	
c) DS-Glucocheiralin	0,36		0,29		0,36	
Glucoconringiin	0,20		0,11		0,17	
d) DS-Glucocconringiin	0,46		0,39		0,52	
Progoitrin	0,25		0,12		0,17	
e) DS-Progoitrin	0,48		0,44		0,43	
Epi-Progoitrin	0,26		0,13		0,17	
f) DS-Epi-Progoitrin	0,48		0,45		0,44	
Glucocapparin	0,24		0,13		0,18	
g) DS-Glucocapparin	0,51		0,46		0,54	
Glucotropaeolin	0,36		0,25		0,32	
h) DS-Glucotropaeolin	0,58		0,59		0,63	
Glucosinalbin	0,32		0,20		0,21	
i) DS-Glucosinalbin	0,55		0,55		0,54	
Glucobarbarin	0,36		0,23		0,31	
j) DS-Glucobarbarin	0,56		0,57		0,61	
Gluconasturtiin	—		—		—	
k) DS-Gluconasturtiin	—		—		—	
Glucorucinin	0,34		0,25		0,28	
l) DS-Glucorucinin	0,57		0,57		0,65	
Glucobrassicin	0,36		0,27		0,32	
m) DS-Glucobrassicin	0,56		0,56		0,61	
Gluconapin	0,32		0,22		0,29	
n) DS-Gluconapin	0,49		0,53		0,60	

ten Glucosinolate um 20–40% tiefere Werte besitzen. Ausnahmen bilden das Glucocapparin und das Progoitrin, deren  $F_p$ -Werte sich nur unwesentlich von denen ihrer Desulfo-Derivate unterscheiden. Besonders auffällig ist das Desulfo-Glucobrassicin, dessen  $F_p$ -Wert den des Glucobrassicins um 40% übersteigt. DS-Progoitrin und DS-Epi-progoitrin, die sich weder gas-, papier- und dünnschicht-chromatographisch noch an Hand ihrer optischen Daten unterscheiden lassen, können durch ihre deutlich verschiedenen  $F_p$ -Werte identifiziert werden.

Durch die Desulfatierung werden die Extinktionsmaxima der Glucosinolate geringfügig (2–5 nm) in

den Bereich kürzerer Wellenlängen verschoben. Deutlicher sind die Unterschiede an den molaren Extinktionskoeffizienten  $\epsilon$  zu erkennen. So liegen die  $\epsilon$ -Werte für DS-Sinigrin und DS-Progoitrin um ungefähr 25 tiefer als die  $\epsilon$ -Werte der entsprechenden Glucosinolate. Auffällig ist der besonders hohe, für DS-Glucosinalbin gemessene  $\epsilon$ -Wert. Erhöht man den pH-Wert von wäßrigen DS-Glucosinolat-Lösungen, so kann die Dissoziation der Ketoximgruppe an Hand der zunehmenden Verschiebung des Extinktionsmaximums in Richtung längerer Lichtwellen beobachtet werden. Bei pH 13 liegen die für DS-Sinigrin und DS-Progoitrin gemessenen



Tab. IV. Dünnschicht- und Papierchromatographische Nachweisreaktionen für Glucosinolate und Desulfo-Glucosinolate. Auf Kieselgel-Folien 60 F<sub>254</sub> sind alle Glucosinolate und DS-Glucosinolate im kurzwelligen UV-Licht aufgrund ihrer Fluoreszenzlösung zu erkennen.

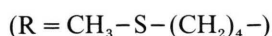
	Sprühreagenz	Reaktionsbedingungen	Anfärbung	Nachweis für
R <sub>1</sub> *	60 ml 0,1 mol/l AgNO <sub>3</sub> + 20 ml konz. NH <sub>4</sub> OH-Lösung	8 min, 120° C	graubraun	alle Glucosinolate und Desulfo-Glucosinolate
R <sub>2</sub> **	90 ml 1% Thymol in Äthanol + 10 ml konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 min, 120° C	rotviolett	
R <sub>3</sub>	1 g 4-Dimethylaminobenzaldehyd + 100 ml Äthanol (Ehrlichs Reagenz)	1–2 h, 20° C in HCl-Atmosphäre	blau	Glucobrassicin, Neoglucobrassicin und ihre Desulfo-Derivate
R <sub>4</sub>	40 ml 25%ige Formaldehydlösung + 20 ml Äthanol + 20 ml konz. HCl (Prochazka Reagenz)	1–3 min, 100° C	orange gelb; im langwelligen UV-Licht: intensiv gelbgrün	
R <sub>5</sub>	25 ml 0,3% Sulfanilsäure in 8%iger HCl + 1,5 ml 5% NaNO <sub>2</sub> in H <sub>2</sub> O (Pauly's Reagenz)	sprühen mit 20%iger Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	orangebraun	Sinalbin und Desulfo-Sinalbin
R <sub>6</sub>	0,1% K <sub>2</sub> PtJ <sub>6</sub> in H <sub>2</sub> O	1–3 min, 20° C	weiße Flecken auf rotem Hintergrund	Methylthio-Glucosinolate wie Glucoibervirin, Glucoerucin und Glucoberteroin und ihre Desulfo-Derivate

\* Auf Papierchromatogrammen können die Flecken durch Waschen der Chromatogramme mit 3-prozentiger Salpetersäure und Wasser fixiert werden.

\*\* Dieses Sprühmittel ist nur für Dünnschicht-Chromatogramme geeignet.

Maxima bei 240 nm. Aus dem in der Abb. 1 dargestellten Kurvenverlauf läßt sich der für beide Verbindungen gültige pK-Wert abschätzen: pK 10,6.

Schon Underhill und Kirkland [4] stellten fest, daß während der Silylierung von Glucosinolaten die Sulfatgruppe abgespalten und die entstehende freie Ketoximgruppe silyliert wird. Gaschromatographisch können daher Glucosinolate nicht von Desulfo-Glucosinolaten unterschieden werden. Dieses ist jedoch (ohne Derivatisierung) leicht durch Dünnschicht- und Papierchromatographie möglich (Tabelle III). Die geringe Polarität der Desulfo-Glucosinolate führt zu höheren *R<sub>F</sub>*-Werten. Die Größe der Differenzen  $\Delta R_f$  sind von der Polarität der Reste *R* abhängig. So besitzt DS-Glucoerucin



einen um 228% höheren *R<sub>F</sub>*-Wert als Glucoerucin; bei dem Vergleichspaar DS-Glucocheirolin/Glucocheirolin



beträgt diese Differenz 362% (Dünnschichtchromatographie mit dem System Butanol/Essigsäure/Wasser). Die auffällig geringen  $\Delta R_f$ -Werte für Glucobrassicin, Glucotropaeolin, Glucobarbarin und Glucosinalbin dürften auf Adsorptionseffekte zurückzuführen sein. Farbreaktionen, mit denen einzelne Glucosinolate und deren Desulfo-Derivate auf DC- und PC-Chromatogrammen z. T. spezifisch erkannt werden können, sind in der Tabelle IV zusammengestellt.

#### Danksagung

Herrn Dr. R. G. Fenwick, ARC, Food Research Institute, Norwich, England, danken wir für die Überlassung von Gluconapin und Epiprogoitrin, für anregende Diskussionen sowie für zusätzliche Betätigung eigener GC-Analysen-Resultate.

- [1] A. Kjaer, in: L. Zechmeister, *Chemie Organ. Naturst.* **12**, 122, Springer Verlag Wien 1960.
- [2] A. Stoll, E. Jucker, K. Paech u. M. V. Tracey, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, **4**, 689, Springer-Verlag, Berlin 1955.
- [3] R. Gmelin, *Präparative Pharmazie* **5**, 17–22 u. 33–41 (1969).
- [4] E. W. Underhill u. D. F. Kirkland, *J. Chromatogr.* **57**, 47 (1971).
- [5] W. Thies, *Fette – Seifen – Anstrichm.* **78**, 231 (1976).
- [6] M. G. Ettlinger u. A. J. Lundeen, *J. Amer. Chem. Soc.* **79**, 1764 (1957). – M. G. Ettlinger, G. P. Dateo u. A. J. Lundeen, US-Army Natick Laboratory, Final Report Contract D. A. 19-129-QM 1050 (1961).
- [7] Z. Nagashima u. U. Uchiyama, *Bull. Agr. Chem. Soc. (Japan)* **23**, 555 (1959).
- [8] H. Schraudolf u. H. Weber, *Untersuchungen zur Biochemie und Physiologie des Indolylglucosinolats Glucobrassicin*. Diplomarbeit Botan. Institut Universität Gießen 1968.
- [9] W. Thies, *Naturwissenschaften* **66**, 364 (1979).
- [10] R. K. Hean-ey u. G. R. Fenwick, (im Druck; persönl. Mitteil.).
- [11] P. Olesen Larsen, P. Friis u. C. E. Olsen, *J. Chem. Soc.* **1977**, 661.