

4 g des harzigen Diacetylkörpers aus Ligroin erhitzte man mit je 10 ccm Methanol und *n*-NaOH auf dem Wasserbade, bis der Alkohol verdampft war. Dann begann Krystallisation: bei 0° gewann man 3 g farbloses Produkt, das man aus 20 Tln. heißem Wasser zu rechtwinkligen, kurzen Prismen und Täfelchen oder aus 10 R.-Tln. Aceton zu anfangs spitzigen Blättchen, später unregelmäßigen, derben Gebilden umlöste. Beide Präparate sinterten von 120° an und schäumten gegen 135° auf, auch wasser-frei schmolzen sie von 130–135°.

Verlust bei 95° (u. 120°), 15 mm: 6.5%.

$C_{25}H_{33}O_5N_2$  (440). Ber. C 68.18, H 7.27, N 6.36. Gef. C 68.10, H 7.28, N 6.42.

Das Derivat ist stark alkalisch, färbt sich mit  $FeCl_3$  nicht, mit  $CrO_3 + 5-n. H_2SO_4$  tiefrot. Es löst sich leicht in den Alkoholen, schwer in Benzol, wenig in Äther.

Das HCl-Salz zeigte:  $[\alpha]_D^{20} = +4.05^\circ \times 100/4.25 \times d = +95.3^\circ/d$ .

Das Perchlorat kam aus 12–15 Tln. heißem Wasser in derben Keilen, in der Kälte fielen feine Nadeln (mit wenig derben). Diese verloren bei 95° (u. 120°) im Vak. 4.5% und hatten:  $[\alpha]_D^{20} = +0.86^\circ \times 100/0.986 \times d = +87.2^\circ/d$ .

Die Base lieferte ebenfalls das Jodmethylat von oben.

### 345. Håkan Sandqvist† und Edvard Bengtsson\*): Zur Frage der Bruttoformel des Sitosterins.

[Aus d. Chem. Abteil. d. Kgl. Pharmazeut. Instituts zu Stockholm.]

(Eingegangen am 27. Juli 1931.)

In dem schwedischen Tallöl („flüssigen Harz“) kommt zu 2–3% ein krystallisierender Anteil vor, aus welchem sich zwei Substanzen isolieren lassen, die Sandqvist und Hök<sup>1)</sup> für Sitosterin und Dihydro-sitosterin ansahen. Bei den weiteren Untersuchungen der obenerwähnten Substanzen wurden u. a. ihre Äquivalentgewichte mittels quantitativer Verseifung der Acetate nach K. Alb. Vesterberg und Ragnar Vesterberg<sup>2)</sup> bestimmt. Diese Methode hatten Sandqvist und Gorton<sup>3)</sup> bereits zur Entscheidung über die Bruttoformel des Stigmasterins benutzt. Sie dürfte als einwandfrei betrachtet werden können, wenn man die Reaktionszeiten so variiert, daß die Acetylierung bzw. Verseifung nicht mehr unvollständig sein kann.

Für „Dihydro-sitosterin“ ergab sich dabei aus vier, trotz variierender Versuchs-Bedingungen gut übereinstimmenden Titrierungen der Mittelwert 455.2 als Äquivalentgewicht des Acetats; für „Sitosterin“ wurde als entsprechender Wert 452.4 gefunden. Diese Werte entsprechen gut den Formeln  $C_{26}H_{51}.O.O.C.H_3 = 458.4$  bzw.  $C_{25}H_{49}.O.O.C.H_3 = 456.4$ . Dieses Ergebnis war recht überraschend, da die gewöhnlich angegebenen Formeln für Dihydro-sitosterin und Sitosterin  $C_{27}H_{47}.OH$  bzw.  $C_{27}H_{45}.OH$  sind.

\*) Die Ausführung dieser von uns beiden in Gemeinschaft geplanten Arbeit hat wegen des plötzlichen Todes von Hrn. Prof. Sandqvist mir allein obgelegen.

E. Bengtsson.

<sup>1)</sup> Svensk kemisk Tidskr. 42, 106–127 [1930].

<sup>2)</sup> Ark. Kemi, Mineral. Geol. 9, No. 27 [1926].

<sup>3)</sup> B. 63, 1935 [1930].

Um nun die Methode zu prüfen, wurden einige Bestimmungen mit einem Sterin, dessen Zusammensetzung wohl als festgestellt angesehen werden kann, nämlich mit Cholesterin ( $C_{27}H_{45}.OH$ ), ausgeführt. Das Äquivalentgewicht des Cholesterin-acetats ergab sich aus vier Titrierungen zu 427.2, was gut mit dem nach der Formel  $C_{27}H_{45}.O.O.C.CH_3$  berechneten Wert 428.4 übereinstimmt.

Es fragt sich jetzt, ob diese von Nadelhölzern stammenden Sterine homolog oder identisch bzw. isomer mit den Sterinen der höheren Pflanzen sind.

Aus den Untersuchungen von Anderson und Mitarbeitern<sup>4)</sup> geht hervor, daß Sitosterin nicht, wie früher angenommen, eine einheitliche Substanz ist, sondern sich in mehrere Komponenten mit sehr verschiedenen Eigenschaften aufteilen läßt. Da diese, wie Bohnstedt<sup>5)</sup> hervorgehoben hat, Mischkrystalle bilden und durch Umkrystallisieren kaum zu trennen sind, ist ersichtlich, daß man scheinbar einheitliche Sitosterine mit sehr variierenden Eigenschaften finden kann. Es ist dementsprechend im allgemeinen unmöglich, auf Grund eines Vergleiches der physikalischen Konstanten die Entscheidung zu treffen. Was das „Dihydro-sitosterin“ anbetriefft, stimmen jedoch die ermittelten Konstanten mit den in der Literatur zu findenden<sup>6)</sup>, welche auch untereinander nur wenig schwanken, gut überein. Beim Tallöl-Sitosterin fällt im besonderen der niedrige Schmelzpunkt des Acetates auf; Sandqvist und Hök (l. c.) zogen hieraus den Schluß, daß diese Substanz hauptsächlich  $\alpha$ - und  $\beta$ -Sitosterin enthält.

Die Formel  $C_{27}H_{44}O$  oder  $C_{27}H_{46}O$  des Sitosterins ist von Burian<sup>7)</sup> auf Grund von Analysen und Molekulargewichts-Bestimmungen aufgestellt worden. Die Schwierigkeit oder sogar Unmöglichkeit, mit Hilfe von Analysen zwischen Formeln zu entscheiden, die bei der Molekulargröße der Sterine nur um eine oder zwei  $CH_2$ -Gruppen differieren, ist ohne weiteres klar. Obgleich die Formeln  $C_{27}H_{44}O$  und  $C_{27}H_{46}O$  in den Prozentzahlen viel größere Unterschiede aufweisen, ist man recht lange unsicher gewesen, welche von den beiden Formeln man wählen sollte. Windaus und Hauth<sup>8)</sup> haben dann auch, wie sie ausdrücklich hervorheben, ihre Stigmasterin-Formel nur auf die Analyse des gut definierten Brom-Additionsproduktes gestützt. Das entsprechende Derivat des Sitosterins ist zu Formel-Bestimmungen ungeeignet, weil es schlecht krystallisiert und im allgemeinen auch Substitutionsprodukte enthält (welche nach Anderson<sup>9)</sup> vom  $\alpha$ -Sitosterin herühren sollen).

Von den Methoden zur Molekulargewichts-Bestimmung ist die kryoskopische verwendet worden. Sie ist aber zur Entscheidung zwischen den Formeln nicht besser als die Analyse geeignet. Freilich findet man Bestimmungen, die ganz vorzüglich — auf 1 oder 2 Einheiten sogar — mit den  $C_{27}$ -Formeln stimmen, wenn man aber die möglichen Fehler der Methode in Betracht zieht, muß eine solche Übereinstimmung als durchaus zufällig erscheinen.

Da sich die  $C_{27}$ -Formel des Sitosterins, soweit wir haben finden können, nur auf die Analyse und die Molekulargewichts-Bestimmung, sowie auch

<sup>4)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 48, 2976, 2987 [1926].

<sup>5)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 176, 269 [1928].

<sup>6)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 46, 1717, 1957 [1924], 48, 2976 [1926]; vergl. a. ibid. 46, 1953 [1924].

<sup>7)</sup> Monatsh. Chem. 18, 551 [1897].

<sup>8)</sup> B. 39, 4378 [1906].

<sup>9)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 48, 2994 [1926].

auf die Analogien mit Cholesterin stützt, so wurden noch zwei als „Sitosterin“ zu bezeichnende Substanzen ganz anderen Ursprungs untersucht. Die eine war das von Stigmasterin befreite Sterin aus Sojabohnen, welches nach Bohstedt ziemlich reich an  $\gamma$ -Sitosterin ist. Wegen der geringen Menge des Materials konnte dasselbe nicht rein dargestellt werden. Bestimmungen des Äquivalentgewichtes wurden mit verschiedenen Fraktionen ausgeführt und dabei Werte von 451.8–444.2 gefunden (s. unt.), die also anscheinend mit der Anreicherung an  $\gamma$ -Sitosterin sinken.

Die zweite Substanz war ein Sterin, das uns E. Merck in Darmstadt gütigst zur Verfügung stellte. Von den untersuchten Substanzen entspricht diese am besten dem gewöhnlichen Sitosterin. Das Äquivalentgewicht ergab sich bei zwei Titrierungen zu 450.2.

Von unseren Präparaten wollen wir nur das Dihydro-sitosterin (und Cholesterin) für ganz rein und einheitlich ansehen; aber auch von den anderen kann nur das  $\gamma$ -Sitosterin (aus Sojabohnen) eine niedrigere Formel als  $C_{29}$  besitzen, jedoch kaum  $C_{27}$ . Nach diesen Bestimmungen kommt somit dem natürlichen Dihydro-sitosterin die Formel  $C_{29}H_{52}O$ , dem Sitosterin die Formel  $C_{29}H_{50}O$  zu.

### Beschreibung der Versuche.

Die Schmelzpunkte sind mit abgekürzten Thermometern bestimmt worden und als korrigiert anzusehen. Der Auftaupunkt wird zuerst (eingeklammert) angegeben, dann das eigentliche Schmelzintervall. Die Drehungsbestimmungen sind bei  $20^{\circ}$  mit Na-Licht aus Monochromator in Chloroform-Lösung bei  $p = 3$  mit bei  $105^{\circ}$  getrockneten Substanzen, die Elementaranalysen nach Dennstedt ausgeführt worden.

#### Cholesterin.

Schmp.  $[146.4^{\circ}] - 147.6^{\circ} - 148.2^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = -38.4^{\circ}$ .

Acetat: Schmp.  $[114.0^{\circ}] - 114.4^{\circ} - 114.8^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = -43.3^{\circ}$ .

#### Sterine des Tallöls.

Dihydro-sitosterin: Durch viele fraktionierte Umkrystallisierungen des ursprünglichen Phytosterin-Gemenges mit dem  $[\alpha]_D = -18^{\circ}$  wurden schließlich schwererlösliche Anteile mit dem  $[\alpha]_D = +10^{\circ}$  erhalten. Die Isolierung des Dihydro-sitosterins geschah nach Anderson und Nabenhauer<sup>10)</sup>. Als Beispiel der mehrmaligen Darstellungen sei erwähnt: 5.5 g der Substanz wurden durch Kochen mit 40 g Essigsäure-anhydrid acetyliert und die Reaktionsmischung in 50 ccm Chloroform gelöst. Unter guter Kühlung in Eiswasser wurde die Lösung dann tropfenweise mit 15 ccm konz. Schwefelsäure versetzt. Die blauschwarze Flüssigkeit wurde vorsichtig mit Wasser vermischt und die Chloroform-Schicht im Scheidetrichter abgetrennt. Nach 3-maligem Waschen mit Wasser wurde das Chloroform verjagt, der Rest 1-mal aus Alkohol umkrystallisiert und dann mit alkohol. Kali verseift. Ausbeute an Dihydro-sitosterin 3.9 g. Liebermannsche Reaktion auch nach mehreren Stdn. negativ. Schmelzpunkt und Drehung wurden nach 1-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol bestimmt: Schmp.  $[135.2^{\circ}] - 138.8^{\circ} - 139.2^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = +25.8^{\circ}$ . Nach 6 Umkrystallisierungen aus abwechselnd

<sup>10)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 46, 1957 [1924].

Alkohol und Aceton wurden diese Konstanten nur wenig verändert gefunden: Schmp.  $[138.6^{\circ}] - 139.4^{\circ} - 139.8^{\circ}$ ,  $[\alpha]_D = +25.6^{\circ}$ . Beim Trocknen verloren die Substanzen 3.8–4.3% an Gewicht, die 1 Mol. Krystallwasser entsprechen.

0.1087, 0.1200 g Sbst.: 0.3329, 0.3663 g  $\text{CO}_2$ , 0.1207, 0.1352 g  $\text{H}_2\text{O}$ .  
 $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}$ . Ber. C 83.42, H 12.46. —  $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{O}$ . Ber. C 83.57, H 12.59.  
 Gef. C 83.52, 83.25, H 12.43, 12.61.

Das Dihydro-sitosterin-acetat wurde durch Acetylierung des gereinigten Sterins dargestellt. Nach 3 Umkrystallisierungen aus absol. Alkohol: Schmp.  $[134.8^{\circ}] - 135.3^{\circ} - 136.0^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = +15.7^{\circ}$ . Kein Gewichtsverlust beim Trocknen.

0.1036, 0.1132 g Sbst.: 0.3087, 0.3367 g  $\text{CO}_2$ , 0.1103, 0.1211 g  $\text{H}_2\text{O}$ .  
 $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$ . Ber. C 80.86, H 11.71. —  $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_2$ . Ber. C 81.15, H 11.87.  
 Gef. C 81.27, 81.12, H 11.92, 11.97.

Sitosterin: Die am leichtesten löslichen Anteile des ursprünglichen Phytosterin-Gemenges wurden so lange aus Alkohol bzw. Aceton umkrystallisiert, bis sich Schmelzpunkt und Drehung nicht mehr änderten. Zur weiteren Prüfung wurde die Substanz durch Umkrystallisieren aus viel Alkohol in drei Fraktionen aufgeteilt, und dasselbe Verfahren mit den Fraktionen I und III wiederholt. Die hierbei gewonnenen, schwerstlöslichen und leichtestlöslichen Fraktionen zeigten keine Unterschiede. Schmp. des Sterins  $[137.2^{\circ}] - 138.2^{\circ} - 138.5^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = -32.2^{\circ}$ . Gewichtsverlust beim Trocknen 6.5–6.9%.

0.1137, 0.1153, 0.1328, 0.1038 g Sbst.: 0.3478, 0.3536, 0.4081, 0.3191 g  $\text{CO}_2$ , 0.1242, 0.1240, 0.1441, 0.1115 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}$ . Ber. C 83.86, H 12.00. —  $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{O}$ . Ber. C 83.98, H 12.16.  
 Gef. C 83.43, 83.64, 83.81, 83.84, H 12.22, 12.04, 12.14, 12.02.

Acetat: Schmp.  $[120.8^{\circ}] - 121.6^{\circ} - 122.2^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = -34.6^{\circ}$ . Kein Gewichtsverlust beim Trocknen.

0.1025, 0.1156 g Sbst.: 0.3073, 0.3452 g  $\text{CO}_2$ , 0.1051, 0.1180 g  $\text{H}_2\text{O}$ .  
 $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_2$ . Ber. C 81.24, H 11.29. —  $\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{O}_2$ . Ber. C 81.50, H 11.48.  
 Gef. C 81.77, 81.44, H 11.47, 11.42.

#### Sitosterin aus Sojabohnen.

Das Roh-phytosterin aus Sojabohnen wurde nach Windaus und Haut<sup>11)</sup> von Stigmasterin befreit. Das leichtlösliche Dibrom-sitosterin-acetat wurde durch Kochen mit Zinkstaub und Essigsäure debromiert und auf Freiheit von Brom nach Beilstein geprüft. Dann wurde die Substanz aufs neue mit Essigsäure-anhydrid gekocht und 2-mal aus Alkohol umkrystallisiert.

Acetat: Schmp.  $[133.2^{\circ}] - 134.5^{\circ} - 135.1^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = -40.9^{\circ}$  (a); nach 3-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol: Schmp.  $[135.0^{\circ}] - 135.4^{\circ} - 136.1^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = -42.6^{\circ}$  (b); nach noch 10 Umkrystallisierungen aus abwechselnd Alkohol und Aceton, erneutem Kochen mit Essigsäure-anhydrid und 1-maligem Lösen aus Alkohol: Schmp.  $[137.4^{\circ}] - 138.9^{\circ} - 139.4^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D = -44.0^{\circ}$  (c).

#### Phytosterin „Merck“.

Die (angeblich aus *Scopolia*-Wurzeln hergestellte) Substanz wurde nach mehrmaligem Umkrystallisieren acetyliert und auf Freiheit von Stigma-

<sup>11)</sup> B. 89, 4378 [1906].

sterin geprüft. Schmp.: des Sterins [136.2°]—137.8°—138.6°,  $[\alpha]_D = -34.4^\circ$ ; des Acetats [129.0°]—129.6°—130.2°,  $[\alpha]_D = -36.8^\circ$ .

Bestimmung des Äquivalentgewichts: Das Verfahren bei der Verseifung war das gleiche, welches Sandqvist und Gorton beim Stigmasterin angewendet haben. Die getrocknete Substanz wurde in einen mit angeschliffenem Luftkühler versehenen Kochkolben eingewogen und mit überschüssiger, ca. 0.1-n. alkohol. Kalilauge gekocht. Nach Abspülen des Kühlers und Schliffes mit bekannten Mengen Alkohol wurde die unverbrauchte Lauge durch Titration mit 0.1-n. Salzsäure und Phenol-phthalein bestimmt.

Der Titer der Lauge änderte sich ein wenig beim Kochen, und beim Öffnen der Flasche allmählich auch durch Kohlensäure-Aufnahme. Unmittelbar vor jeder Bestimmung wurde daher ein blinder Versuch unter genau denselben Verhältnissen, derselben Kochzeit, demselben Alkohol-Zusatz usw. ausgeführt.

Die in der Tabelle mit I bezeichneten Acetate sind durch  $\frac{3}{4}$ -ständiges, alle anderen durch  $1\frac{1}{2}$ -ständiges Kochen mit Essigsäure-anhydrid dargestellt.

Substanz	Menge	Kochzeit in Stdn.	Lauge ccm	Verbrauch an 0.10014-n. Säure		Äquivalent- gewicht
				im Blind- versuch	nach der Verseifung	
Cholesterin-acetat						
I	0.4951	1	30.02	28.90	17.34	427.7
I	0.4221	2 $\frac{1}{2}$	30.02	28.86	18.94	425.0
II	0.3880	1	30.02	29.02	20.00	429.6
II	0.5146	2	30.02	29.01	16.96	426.5
					Mittel	427.2
Dihydro-sitosterin-acetat (aus Tallöl)						
I	0.3082	1 $\frac{1}{2}$	30.02	29.09	22.30	453.3
I	0.5107	4 $\frac{1}{2}$	30.02	29.09	17.90	455.8
II	0.4640	2 $\frac{1}{2}$	30.02	29.09	18.93	456.1
II	0.3622	4	30.02	28.86	20.92	455.5
					Mittel	455.2
Sitosterin-acetat (aus Tallöl)						
I	0.4039	1 $\frac{1}{2}$	30.02	30.12	21.20	452.3
I	0.4255	3	30.02	30.09	20.69	452.0
II	0.4901	1	30.02	29.09	18.29	453.2
II	0.3581	2	30.02	30.08	22.17	452.1
					Mittel	452.4
Sitosterin-acetat aus Sojabohnen						
a)	0.4533	1 $\frac{1}{2}$	30.02	29.02	19.00	451.8
b)	0.4192	1 $\frac{1}{2}$	30.02	30.10	20.74	447.2
b)	0.3856	3	30.02	30.10	21.50	447.8
c)	0.4075	1 $\frac{1}{2}$	30.02	30.06	20.91	444.8
c)	0.4892	1 $\frac{1}{2}$	30.02	30.08	19.08	444.2
Sitosterin-acetat „Merck“						
	0.3764	2	30.02	30.08	21.71	449.2
	0.3741	3	30.02	30.08	21.80	451.2