

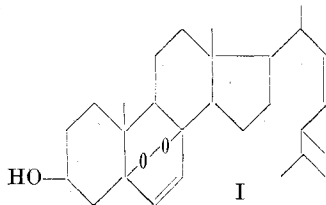
133. Über die Isolierung von Ergosterin, Ergosterin-palmitat und Ergosterin-peroxyd aus dem Mycel von *Aspergillus fumigatus*, mut. *helvola*, Yuill.

von P. Wieland und V. Prelog.

(9. V. 47.)

Aus den neutralen Lipoiden, welche aus dem Mycel des im Titel erwähnten Schimmelpilzes erhalten wurden, liessen sich durch chromatographische Trennung an Aluminiumoxyd drei krystalline Verbindungen isolieren, die als Ergosterin, Ergosterin-palmitat und Ergosterin-peroxyd identifiziert werden konnten.

Das Ergosterin wurde bereits vielfach aus Mycelen verschiedener Schimmelpilze erhalten, unter anderen auch aus Mycelen einiger *Aspergillus*-Arten¹⁾. Ebenso ist es schon längere Zeit bekannt, dass ein Teil des Ergosterins bei Schimmelpilzen verestert vorkommt. Das Ergosterin-palmitat wurde in reiner Form aus verschiedenen *Penicillium*-Arten isoliert²⁾. Dagegen ist Ergosterin-peroxyd (I) u. W. in der Natur nicht aufgefunden worden.



Das Ergosterin-peroxyd entsteht verhältnismässig leicht aus Ergosterin durch Autoxydation unter Belichtung in Anwesenheit eines Sensibilisators³⁾. Es ist deshalb trotz des sorgfältigen Aufarbeitens schwer zu entscheiden, ob es ein Stoffwechselprodukt des Schimmelpilzes ist oder ob es erst sekundär gebildet wird. In der Natur wurde bisher nur ein analog gebautes Peroxyd, das Ascaridol, aufgefunden.

Wir danken Herrn Dr. L. Ettlinger für die im Institut für spezielle Botanik der E.T.H. Zürich durchgeführte Züchtung des Schimmelpilzes. Der eine von uns (P. W.) dankt dem Jubiläumsfonds E.T.H. 1930 für die Erteilung eines Stipendiums.

¹⁾ Vgl. z. B. L. M. Pruess, W. H. Peterson und E. B. Fred, J. Biol. Chem. **97**, 483 (1932); F. M. Strong und W. H. Peterson, Am. Soc. **56**, 952 (1934); E. Rupol, J. pharm. Belg. **19**, 63 (1937); K. Bernhauer und G. Posselt, Bioch. Z. **294**, 215 (1937).

²⁾ A. E. Oxford und H. Raistrick, Biochem J. **27**, 1176 (1933).

³⁾ A. Windaus und J. Brunken, A. **460**, 225 (1928). Über die Konstitution vgl. A. Windaus, Z. physiol. Ch. **276**, 280 (1942).

Experimenteller Teil¹⁾.

Aspergillus fumigatus mut. *helvola* Yuill.²⁾ wurde in 500 cm³ Erlenmeyer-Kolben mit je 100 cm³ Nährlösung 14 Tage bei 33° im Dunkeln in einem Medium gezüchtet welches 10% Malzextrakt (*Wander*) und 1% Pepton (*Witte*) enthielt. Die aus 30 Liter Kulturflüssigkeit stammenden, abfiltrierten und noch feuchten Mycele wurden mit Phosphorsäure auf p_H = 2 gebracht und so oft mit Äther³⁾ extrahiert, bis die ätherische Lösung farblos blieb.

Die tief braunroten, auf 800 cm³ eingeeengten und durch eine Glasfilternutsche filtrierten ätherischen Auszüge wurden 20-mal mit je 150 cm³ gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, 20-mal mit je 100 cm³ 6-proz. Natriumcarbonat-Lösung und dann mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen und Eindampfen der ätherischen Lösung blieben 6 g eines hellbraunen Öles zurück, welches in 100 cm³ Benzol über 180 g Aluminiumoxyd (Aktivität IV) chromatographiert wurde (Tabelle 1).

Tabelle 1.

Fraktion	Eluierungsmittel	L	Eluat mg
1—9	Benzol	2,6	3970
10—20	Benzol	5,2	140
21—31	Benzol	17,8	230
32—41	Benzol-Äther 20:1 . . .	13,2	150
42—44	Benzol-Äther 20:1 . . .	5,2	20
45	Äther	1,2	30
46—58	Methanol	16,0	910

Aus den Fraktionen 1—9 des Chromatogramms konnten durch Umlösen aus Chloroform-Äthanol 1,3 g farbloser Krystalle erhalten werden. Diese wurden in 200 cm³ Petrol-äther-Benzol 1:1 gelöst und an 40 g Aluminiumoxyd (Aktivität IV) nochmals chromatographiert. Nach Umlösen der ersten Fraktion dieses zweiten Chromatogramms aus Chloroform-Alkohol erhielten wir 45 mg eines krystallinen Produktes von Smp. 90,5°. Zur Analyse wurde noch 5-mal aus Chloroform-Alkohol unkrystallisiert und bei 75° im Hochvakuum getrocknet, wodurch der Smp. auf 102—103° stieg. Die Verbindung gab mit Tetranitromethan eine Braunfärbung und liess sich nicht acetylieren. Mit synthetischem Ergosterin-palmitat⁴⁾ wurde keine Schmelzpunktniedrigung beobachtet. Die Absorptionsspektren im U.V. des isolierten und des synthetischen Präparates waren identisch.

$$[\alpha]_D^{16} = -46^{\circ} \pm 2^{\circ} \quad (c = 1,096 \text{ in Chloroform})$$

3,698 mg Subst. gaben 11,288 mg CO₂ und 4,002 mg H₂O

C₁₄H_{7,4}O₂ Ber. C 83,21 H 11,75%

Gef. „ 83,30 „ 12,11%

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

²⁾ Für die Überlassung einer Kultur des Schimmelpilzes danken wir Herrn Dr. E. Chain, Oxford.

³⁾ Zur Kontrolle wurde bei einem anderen kleineren Ansatz die Extraktion mit Chloroform durchgeführt, wobei die gleichen Ergebnisse erhalten wurden wie mit Äther.

⁴⁾ Vgl. A. Windaus und O. Rygh, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, 1928, 202. Zu Vergleichszwecken haben wir die Verbindung aus Ergosterin mit Palmitinsäure-chlorid und Pyridin in Benzol bei Zimmertemperatur hergestellt.

Weitere Fraktionen des zweiten Chromatogramms gaben nach Umlösen aus Alkohol reines Ergosterin vom Smp. 160–161° ($C_{28}H_{44}O + H_2O$, Ber. C 81,10, H 11,19%, Gef. C 81,22, H 11,19%) mit einem $[\alpha]_D^{20} = -130^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 1,30$ in Chloroform). Das isolierte Präparat besass das charakteristische Absorptionsspektrum des Ergosterins¹⁾ im U.V. und gab ein Acetat vom Smp. 173,5–174,5° ($C_{30}H_{46}O_2$, Ber. C 82,14, H 10,57%, Gef. C 82,33, H 10,78%) mit einem $[\alpha]_D^{21} = -87^\circ \pm 8^\circ$ ($c = 0,49$ in Chloroform).

Aus den Fraktionen 21–41 des ersten Chromatogramms (vgl. Tabelle I) wurden durch Umlösen aus Alkohol und Methanol 120 mg Ergosterin-peroxyd vom Smp. 180,5–181,5° und weitere 50 mg vom Smp. 172–173° erhalten. Mit einem authentischen Ergosterin-peroxyd gab die Verbindung keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde 3-mal aus Methanol umgelöst und bei 145° im Hochvakuum sublimiert, Smp. 181,5–183°.

$$[\alpha]_D^{20} = -29^\circ \pm 3^\circ \quad (c = 0,804 \text{ in Chloroform})$$

3,652 mg Subst. gaben 10,513 mg CO_2 und 3,437 mg H_2O

$$\begin{array}{rcl} C_{28}H_{44}O_3 & \text{Ber. C} & 78,45 \quad \text{H } 10,35\% \\ & \text{Gef. } & \text{, } 78,56 \quad \text{, } 10,53\% \end{array}$$

Das bei 202,5–203,5° schmelzende Acetat des erhaltenen Ergosterin-peroxyds gab mit einem Vergleichspräparat keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde aus Aceton umgelöst und bei 165° im Hochvakuum sublimiert.

$$[\alpha]_D^{20} = -23^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,650 \text{ in Chloroform})$$

3,601 mg Subst. gaben 10,064 mg CO_2 und 3,092 mg H_2O

$$\begin{array}{rcl} C_{30}H_{46}O_4 & \text{Ber. C} & 76,55 \quad \text{H } 9,85\% \\ & \text{Gef. } & \text{, } 76,27 \quad \text{, } 9,61\% \end{array}$$

Das bisher nicht beschriebene Tribromacetat des Ergosterin-peroxyds krystallisierte aus Aceton in farblosen Nadeln, welche sich bei 165° zersetzen. Zur Analyse wurde bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{20} = -6,3^\circ \pm 1,5^\circ \quad (c = 1,435 \text{ in Chloroform})$$

3,539 mg Subst. gaben 6,597 mg CO_2 und 1,981 mg H_2O

2,647 mg Subst. gaben 2,092 mg AgBr

$$\begin{array}{rcl} C_{30}H_{43}O_4Br_3 & \text{Ber. C} & 50,93 \quad \text{H } 6,13 \quad \text{Br } 33,89\% \\ & \text{Gef. } & \text{, } 50,88 \quad \text{, } 6,26 \quad \text{, } 33,63 \end{array}$$

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁾ Vgl. z. B. W. Huber, G. W. Ewing und J. Kriger, Am. Soc. **67**, 610 (1945).