

Über die Phytosterine des Rüböls

Von

Leopold Schmid und Alfred Waschkau

Aus dem II. Chemischen Universitätslaboratorium in Wien

(Mit 1 Textfigur)

(Vorgelegt in der Sitzung am 24. März 1927)

Seit der Beobachtung von Windaus, daß sich die Phytosterine von der Formel $C_{30}H_{50}O$ und $C_{27}H_{46}O$ über ihre bromierten Ester leicht trennen und rein darstellen lassen, wurden zahlreiche Phytosterine nach diesem Verfahren auf ihre Einheitlichkeit untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß manche der früher beschriebenen Präparate als Gemenge einiger weniger, jedoch häufig auftretender Phytosterine erkannt wurden. Von Windaus und Welsch wurde nach Berichten 42, p. 612 das erste Mal das Rüböl daraufhin untersucht. Sie konnten zeigen, daß das Rüböl-Phytosterin ein Gemenge von einem dem Stigmasterin sehr ähnlichen Körper, welchen sie Brassicasterin nennen, mit einem Phytosterin $C_{27}H_{46}O$ darstellt. Während genannte Autoren dem Brassicasterin eine eingehende Untersuchung zuteil werden ließen, widmen sie dem andern Phytosterin nur eine ganz kurze Notiz, da, wie sie bemerken, sie nicht ganz sicher sind, ob sie dieses Phytosterin in völlig reinem Zustand in Händen gehabt haben. Durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. Grün aus Aussig, dem wir an dieser Stelle dafür besonders danken möchten, erhielten wir phytosterinreiche Rübölfractionen. Dadurch war es uns möglich, dieses Sterin genauer zu untersuchen. Zur Reindarstellung des Rübölsterins hielten wir uns an das von G. Klein und K. Pirschle beschriebene Verfahren, indem wir das Rohprodukt mit Petroläther extrahierten und den Extrakt nach Entfernen des Petroläthers mit alkoholischer Lauge kochten.

Durch abwechselndes Umkrystallisieren aus Petroläther, Alkohol und Behandeln mit Lauge erhielten wir schließlich das Phytosterin. Das nun vorliegende Gemenge von Brassicasterin und dem sitosterinähnlichen Körper wurde in der üblichen Weise über die bromierten Acetate in die beiden Bestandteile zerlegt. Das sich in schönen Krystallen abscheidende Tetrabrom-brassicasterinacetat wurde, wie schon erwähnt, von Windaus gründlich untersucht. Ergänzend möchten wir nur bemerken, daß die Ähnlichkeit des Brassicasterins mit dem Stigmasterin nicht nur in den Löslichkeitsverhältnissen, sondern auch in den krystallographischen und optischen Eigenschaften sehr weitgehend vorhanden ist, wie aus dem krystallographischen Befund weiter unten zu ersehen ist.

Uns interessierte vor allem die in Äthereisessig gelöst gebliebene sitosterinähnliche Komponente. Zu deren Isolierung wurde die als Bromacetat vorliegende Substanz zunächst mit Natriumamalgam und dann mit Zinkstaub entbromt. Nach Ausfällen mit Wasser und wiederholtem Umkrystallisieren aus Alkohol erhielten wir eine Substanz vom Schmelzpunkt 132 bis 133° (korr.), nachdem sie bei 126 bis 127° weichgeworden war. Dies war auffällig, weil der Schmelzpunkt des Sitosterinacetats nur 127° haben sollte. Da der Schmelzpunkt von 132 bis 133° auch nach oft wiederholtem Umkrystallisieren unverändert blieb, so suchten wir durch Wiederholung der Bromierung und schließlich der Entbromung das Acetat auf diesem Wege zu reinigen.

Die Ausführung genannter Operationen an der Substanz führte schließlich wieder zu einem Produkt vom Fp. 132 bis 133°, nachdem bei 128° ein Weichwerden zu beobachten war. Ohne den weiter unten zu schildernden Versuchsergebnissen vorgreifen zu wollen, möchten wir bemerken, daß wir ein Acetat darstellten aus einem Alkohol, der über das Digitonid gereinigt worden war. Dieses Acetat zeigte auch nach wiederholtem Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 127 bis 128°, nachdem bei 124½° Weichwerden zu beobachten war. Um zum freien Alkohol zu gelangen, wurde das Acetat vom Fp. 132° mittels alkoholischer Lauge verseift. Der Schmelzpunkt dieses Alkohols lag auch nach wiederholtem Umkrystallisieren bei 139½ bis 140° (korr.). Windaus gibt dafür 142° an. Dieser Schmelzpunkt ist für Sterine von der Formel $C_{27}H_{46}O$ einigermaßen auffällig. Es lag daher die Vermutung nahe, daß dieser Alkohol noch nicht rein vorliegen könnte. Da durch Umkrystallisieren eine Änderung des Schmelzpunktes nicht zu beobachten war, so wurde versucht, mittels der Digitonidbildung den Alkohol von möglicherweise vorhandenen Begleitstoffen zu trennen. Der Alkohol vom Schmelzpunkt 139·5 bis 140° wurde mittels alkoholischer Digitonidlösung in das Digitonid verwandelt und dieses durch Xylol wieder in die Komponenten zerlegt. Der auf diese Weise erhaltene Alkohol zeigte nun tatsächlich nach mehrmaligem Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 136 bis 137° (korr.). Der Mischschmelzpunkt mit Sitosterin, welches aus Weizenkeimlingen bereitet worden war, ergab keine Depression. Auch in ihren krystallographischen und optischen Eigenschaften zeigten obiges Sitosterin und dieser Rübölalkohol keinerlei Unterschiede. Aus dem über das Digitonid gereinigten Alkohol wurde nun mittels Essigsäureanhydrid wieder das Acetat dargestellt. Dieses zeigte jetzt den Fp. von 127 bis 128° (korr.). Der Mischschmelzpunkt mit Sitosterinacetat, welches aus dem Phytosterin aus Calabarbohnen bereitet war, lag bei 127°, ergab also keine Depression. Im folgenden wurde noch das Benzoat bereitet. Dieses zeigte in Übereinstimmung mit den Angaben von Windaus den Fp. 143° (korr.), wie das Sitosterinbenzoat. Außerdem stellten wir noch das Anisprodukt dar, da wir aus der Methoxybestimmung des Anis-

esters eine Stütze für das Molekulargewicht sehen konnten. Wir fanden dabei Zahlen, die mit der Formel $C_{27}H_{46}O$ für den Alkohol in gutem Einklang stehen.

Somit glauben wir mit großer Wahrscheinlichkeit sagen zu dürfen, daß das neben Brassicasterin im Rübböl vorkommende Phytosterin mit Sitosterin identisch ist, ohne mit Bestimmtheit einen Grund dafür angeben zu können, wodurch der höhere Schmelzpunkt des Alkohols und seines Acetats bedingt ist, welcher nicht über das Digitoninprodukt gereinigt wurde. Denn dazu reichte das vorhandene Material wohl nicht mehr aus.

Beschreibung der Versuche.

Isolierung des Ausgangsmaterials.

Es wurden 50 g unseres Röhproduktes erschöpfend mit Petroläther extrahiert und nach dem Abdunsten des Petroläthers mit der dreifachen Menge alkoholischer Lauge verseift. Die Lösung wurde heiß filtriert und in 30 bis 40% warmen Alkohol einfließen gelassen. Die Fällung wurde abfiltriert, am Wasserbad getrocknet und in Aceton gelöst. Die Acetonlösung wurde wieder filtriert und in Krystallisierschalen langsam eindunsten gelassen. Zur weiteren Reinigung wurde dieser Acetonrückstand mit warmem Petroläther aufgenommen und nach dem Erkalten mit 50% wässriger Natronlauge im Scheidetrichter vorsichtig geschüttelt. Nach zwölfstündigem Stehen wurde die Lauge abgelassen, die Petrolätherschicht mit 5% Natriumkarbonatlösung und mit Wasser gewaschen. Nach Abdunsten des Petroläthers wurde das Phytosterin wiederholt aus Alkohol umkrystallisiert.

Acetylierung des Phytosterins.

3.5 g nach obiger Methode gereinigtes Phytosterin wurden mit 200 cm^3 frisch destilliertem Essigsäureanhydrid zwei Stunden am Rückflußkühler gekocht. Nach einigen Minuten war Lösung eingetreten. Nach dem Erkalten wurde das ausgeschiedene Acetatgemisch filtriert und mit Essigsäureanhydrid nachgewaschen.

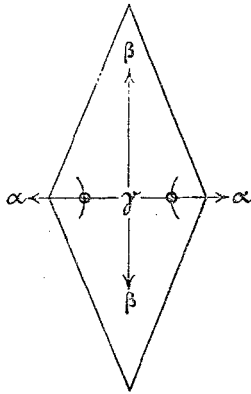
Bromierung.

3 g durch nochmaliges Umkrystallisieren aus Alkohol gereinigtes Phytosterinacetat wurden in 30 cm^3 Äther gelöst und mit 38 cm^3 Bromeisessig (5 g Brom in 100 cm^3 Eisessig) versetzt. Nach zweistündigem Stehen war die Fällung beendet. Die glänzenden Krystalle des abgeschiedenen Tetrabrom-brassicasterinacetats wurden nun abgesaugt, getrocknet und oftmals aus Chloroformalkohol umkrystallisiert. Die Krystalle zeigten einen Schmelzpunkt von 209° (korr.). Leicht löslich in Chloroform, in kaltem Alkohol nahezu unlöslich.

Krystallographischer Befund.

Für die krystallographischen Untersuchungen möchten wir an dieser Stelle Herrn Dr. Köhler vom mineralogischen Institut der Universität in Wien unsern herzlichsten Dank aussprechen.

Die dünntafeligen Kryställchen zeigen fast immer einen rhombenförmigen Umriß, wie in folgender Figur dargestellt ist. Der spitze Winkel wurde an mehreren Individuen gemessen, er beträgt $44^\circ + -1.5^\circ$. Seltener ist die Spitze durch eine kleine Fläche gerade abgestumpft. Die Schwingungsrichtungen fallen mit den Diagonalen zusammen. Zentrisch tritt eine Mittellinie γ (wahrscheinlich II. Mittellinie) aus, Achsenebene ist parallel der kürzeren Diagonale. Die optische Orientierung ist aus der Figur zu ersehen.



Eine vergleichende Untersuchung des Tetrabrom-stigmasterinacetats ergab folgenden Befund:

Die Kryställchen sind immer tafelig nach einer rhombenförmig umgrenzten Fläche ausgebildet. Senkrecht zu dieser Fläche treten noch ganz schmale Flächen auf. Die scharfe Spitze ist bisweilen durch eine kleine Fläche abgestumpft. Würde sie bei einer anderen Trachtausbildung größer werden, so käme eine sechsseitige Figur zustande, wie dies in der Arbeit B 39/4381 erwähnt wird. Andere Flächen konnten nicht beobachtet werden. Die Auslöschung ist eine symmetrische. Im Konoskop ist der senkrechte Austritt der Mittellinie Gamma zu konstatieren. Die Achsenebene liegt parallel der kürzeren Diagonale der rhombenförmigen Fläche; demnach entspricht die Schwingungsrichtung parallel der kurzen Diagonale dem rascheren Strahl α , die parallel der längeren Diagonale der optischen Normalen β . Beide Achsen gehen beim Drehen des Tisches weit aus dem Gesichtsfeld hinaus, es dürfte somit die II. Mittellinie vorliegen. Dispersion konnte nicht beobachtet werden. Nach diesen optischen Eigenschaften dürften die Krystalle dem Rhombischen System angehören.

Die zwei Präparate zeigten daher Kryställchen von der gleichen Krystallform und denselben optischen Eigenschaften.

Acetat.

Das Filtrat vom Tetrabrom-brassicasterinacetat (siehe Bromierung!), welches das Dibromid des sitosterinähnlichen Körpers enthielt, wurde mit 20 g 4%igen Natriumamalgam reduziert, vom Quecksilber abfiltriert, der Äther verdampft und zwei Stunden am Rückflußkühler mit Zinkstaub gekocht. Die farblose Lösung wurde vom Zinkstaub abfiltriert und vorsichtig mit Wasser versetzt; die sich abscheidenden Krystalle wurden mehrmals aus Alkohol umkrystallisiert und zeigten einen Fp. von 132 bis 133° (korr.), nachdem sie bei 126 bis 127° weich wurden. Leicht löslich in heißem, schwer löslich in kaltem Alkohol.

Alkohol.

Zur Darstellung des freien Alkohols wurden 2 g des obigen Acetats mit 120 cm^3 95%igen Alkohol und 10 cm^3 50%ige Kalilauge zwei Stunden am Rückflußkühler gekocht. Der nach vorsichtigem Wasserzusatz ausgeschiedene und aus siedendem Weingeist wiederholt umkrystallisierte Alkohol hatte einen Fp. von 139.5 bis 140° (korr.), nachdem ein Weichwerden bei 136 bis 137° zu beobachten war. Leicht löslich in heißem Alkohol, schwer in kaltem Alkohol. Das aus diesem Alkohol bereitete Acetat zeigte nach oftmaligem Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 134° (korr.) nach einem Erweichen bei 128°.

Digitonid und der daraus gewonnene Alkohol.

1.6 g Alkohol wurden in 240 cm^3 95%igen Weingeist gelöst, zum Sieden erhitzt und mit 400 cm^3 heißer, alkoholischer Digitoninlösung versetzt. Nach einstündigem Stehen war die Fällung vollkommen, wurde nun filtriert und mit Alkohol gewaschen. Das über P_2O_5 getrocknete (im Vakuum) Digitonid wurde auf folgende Weise mit Xylol zerlegt: In den Hals eines mit Xylol beschickten und mit Rückflußkühler versehenen Kolben befestigten wir in einer Filtrierpapierhülse das Digitonid. Nach zehnstündigem Kochen war das Digitonid in seine Bestandteile zerlegt, wobei der Alkohol von Xylol aufgenommen war, das Digitonin hingegen in der Hülse unlöslich zurückblieb.

Das Xylol wurde mittels Wasserdampf verjagt und der Alkohol aus siedendem Weingeist wiederholt umkrystallisiert. Nun zeigte er einen Schmelzpunkt von 136 bis 137° (korr.), nachdem vorher ein Weichwerden bei 132 bis 133° zu beobachten war. Der Mischschmelzpunkt mit Sitosterin, welches aus Weizenkeimlingen bereitet war, ergab keine Depression. Auch in kristallographischer

und optischer Hinsicht erscheint dieser Alkohol mit dem Sitosterin identisch.

Berechnet: C = 83·94⁰/₁₀; H = 11·92⁰/₁₀.

Gefunden: C = 83·77⁰/₁₀; H = 11·84⁰/₁₀.

Acetat aus dem aus Digitonid gewonnenen Alkohol.

0·1 g Alkohol wurde in der üblichen Weise acetyliert. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Weingeist hatte es einen Schmelzpunkt von 127 bis 128°, nachdem es bei 124·5° weich geworden war. Der Mischschmelzpunkt mit Sitosterinacetat, welches aus dem Phytosterin der Calabarbohnen dargestellt wurde, ergab ebenfalls keine Depression.

Berechnet: C = 81·31⁰/₁₀; H = 11·22⁰/₁₀.

Gefunden: C = 81·52⁰/₁₀; H = 11·31⁰/₁₀.

Benzoat.

0·5 g Alkohol wurden mit 1 g Benzoesäureanhydrid zwei Stunden im offenen Kölbchen auf 150° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde in warmem Äther gelöst, filtriert, das Filtrat eingeeengt und aus dem Filtrat das Benzoat durch Zusatz von Alkohol ausgefällt. Aus Chloroformalkohol wiederholt umkrystallisiert, hat es den Fp. 143° (korr.), der mit dem Schmelzpunkt von Sitosterinbenzoat, wie es schon Windaus beobachtet hat, übereinstimmt.

Berechnet: C = 83·20⁰/₁₀; H = 10·28⁰/₁₀.

Gefunden: C = 83·41⁰/₁₀; H = 10·10⁰/₁₀.

Anisester.

0·5 g reiner Alkohol wurden in 5 g gereinigtem Pyridin gelöst und mit 0·5 g Anissäurechlorid tropfenweise versetzt. Nach zwölfstündigem Stehen wurde das Reaktionsprodukt in verdünnte Schwefelsäure eingetroppt, wobei der Anisester in weißen Flocken ausfällt. Aus Chloroformalkohol hat es den Fp. 147 bis 148° (korr.). Gleichzeitig beginnt ein prächtiges Farbenspiel, das bei auffallendem Licht violett, bei durchfallendem Licht gelbrot erscheint. Bei dieser Temperatur ist zwar ein Miniskus deutlich sichtbar, aber die geschmolzene Substanz ist trüb. Erst bei 210 bis 215° wird die Flüssigkeit ganz klar, wobei sie ihre Fluoreszenz einbüßt.

7·057 mg Substanz gaben 3·137 mg AgJ.

Berechnet für C₃₅H₅₂O₃: 5·96⁰/₁₀ OCH₃.

Gefunden: 5·875⁰/₁₀ OCH₃.

Der Akademie der Wissenschaften in Wien sprechen wir unseren ergebensten Dank aus für die Mittel, mit denen sie die Ausführung dieser Arbeit unterstützt hat.