

Untersuchungen über pflanzliche Sterine

Von

Leopold Schmid und Gerhard Bilowitzki

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 23. Februar 1928)

Bei einer ansehnlichen Zahl von Sterinen konnte bereits gezeigt werden¹⁻⁹, daß es sich dabei meist nur um das Sitosterin handelt, das fast immer mit größeren oder kleineren Mengen von Stigmasterin vergesellschaftet auftritt. In weniger häufigen Fällen wurden andere Sterine isoliert, so z. B. bei dem aus *parthenium argentatum*¹⁰, *asclepias syriaca*¹¹ und einigen anderen. Die Phytosterine kommen wohl sehr verbreitet, doch meist nur in geringen Konzentrationen vor. Durch die quantitative *Digitonidreaktion* gelingt es einerseits verhältnismäßig leicht, sie zu isolieren, andererseits gewährleistet die Behandlung eines Estergemisches mit Brom¹ eine zuverlässige Trennung des fast immer auftretenden Sitosterins von seinem Begleiter Stigmasterin. Mittels letzterer Reaktion konnten wir nun auch an den Sterinen von *radix bardanae*, *figus carica* und *ulmus campestris* den Nachweis erbringen, daß diese ausschließlich Sitosterin und Stigmasterin enthalten.

1. Über die Sterine aus *radix bardanae*.

Von Zellner wurde¹² aus *radix bardanae* ein Phytosterin vom Schmelzpunkt 132° isoliert, das große Ähnlichkeit mit dem Hesseschen Phytosterin zeigte. Genannter Forscher hatte jedoch zu wenig Material in Händen, um diesem Körper eine eingehendere Untersuchung zuteil werden zu lassen. Das von uns untersuchte Pflanzenmaterial war käufliche Klettenwurzel.

¹ Windaus und Hauth, Bd., 29, 4378.

² Mathes, B., 41, 19.

³ Mathes, B., 41, 2000.

⁴ Windaus, B., 42, 614.

⁵ Schmid und Stöhr, B., 59, 1407.

⁶ Schmid, M., 48, 289 (1927).

⁷ Husemann, A., 117, 206 (1861).

⁸ Gills-Tuffts, Am. Soc. 25, 251 (1903).

⁹ Windaus, Scopoliasterin, Zeitschr. f. physiol. Chem., 140, 109.

¹⁰ Schmid Ludwig, M., 48, 577 (1927).

¹¹ Schmid-Ludwig, M., 48, 577 (1927).

¹² Arch. Ph. 1924.

5 kg dieser Droge wurden einer erschöpfenden Extraktion mit Alkohol unterworfen. Wir erhielten nach weiter unten beschriebenen Verfahren schließlich zirka 1 g reines Phytosterin vom F.P. 132°. Da das Verhalten des Schmelzpunktes auf das Vorliegen eines Gemenges hindeutete, suchten wir diese Vermutung dadurch zu entscheiden, daß wir das eventuell vorliegende Gemenge nach Veresterung einer Bromaddition in der üblichen Weise unterzogen. Durch Kochen mit Essigsäureanhydrid führten wir unser Präparat in das Acetylprodukt über. Dieses so erhaltene Acetat wurde in ätherischer Lösung mit Bromeisessig versetzt. Nach mehrstündigem Stehen war ein in Äther-Bromeisessig schwer lösliches Produkt abgeschieden. Nach Umkrystallisieren aus Choroformalkohol und aus Benzol lag sein Schmelzpunkt bei 209–210°. Mischschmelzpunkt mit dem Tetra-brom-stigmasterin-acetat lag unter Zersetzung gleichfalls bei 209°, die Analysen ergaben Werte, die mit einem solchen Körper gut übereinstimmen. Auch in den Löslichkeitsverhältnissen und in der Krystallform ließ unser Präparat keinen Unterschied von dem entsprechenden Stigmasterinderivat erkennen. Zur Darstellung weiterer Derivate reichte die vorhandene Menge nicht aus, doch glauben wir auf Grund des vorliegenden Beobachtungsmaterials diese Komponente für Stigmasterin halten zu dürfen.

Aus dem Filtrat vom Tetra-brom-stigmasterin-acetat wurde nun durch Reduktion mit Natriumamalgam und Kochen mit Zinkstaub das Brom entfernt und das Acetat durch vorsichtigen Wasserzusatz abgeschieden. Um eventuell noch vorhandene Teile der ersten Komponente zu entfernen, wurde nun die Bromierung in ätherischer Lösung wiederholt und auf die gleiche Weise das nunmehr völlig reine Acetat der zweiten Komponente abgeschieden. Nach öfterem Umkrystallisieren aus Alkohol wies es den F.P. 127° auf, der auch nach wiederholtem Umkrystallisieren konstant blieb. Zu Vergleichszwecken wurde aus Calabarbohnen das Sitosterinacetat dargestellt, dessen Schmelzpunkt gleichfalls bei 127° gelegen war und im Mischschmelzpunkt mit unserem Präparat keine Depression ergab. Auch die Analysen ergaben Werte, die auf ein Sitosterinacetat schließen ließen.

Der Vollständigkeit halber stellten wir aus dem Acetat durch Verseifen mit 10%iger alkoholischer Kalilauge den zugrunde liegenden Alkohol dar, der den Schmelzpunkt des freien Sitosterins = 137° aufwies und prachtvoll aus Alkohol, Äther, Petroläther, Essigester und Aceton in Form von glänzenden Schuppen oder langen Nadeln krystallisierte. Auf Grund seiner Analyse und des Mischschmelzpunktes mit Sitosterin aus Weizenkeimlingen sowie der völligen Übereinstimmung auch hinsichtlich des Acetats, des Anisats und des Benzozats mit den entsprechenden Sitosterinprodukten wurde diese Komponente als Sitosterin erkannt.

2. Über die Sterine aus *figus carica*.

Ein weiteres von uns untersuchtes Sterin stammte aus den Blättern und Stengeln von *figus carica*. 10 *kg* Material (entsprechend zirka 3 *kg* Trockenmaterial) wurden einer erschöpfenden Extraktion mit Alkohol unterworfen. Wie bei *radix bardanae* schien auch hier die Extraktion mit Alkohol empfehlenswerter wie die mit Petroläther, weil jener weniger von den Ölen in die Extrakte zog und die Behandlung mit Alkohol schneller und billiger zur vollständigen Extraktion führte. Durch die Art der Begleitstoffe mußten wir die Aufarbeitung der Extrakte etwas abändern, wie im Versuchsteil näher ausgeführt werden wird. Als krystallisiertes Produkt konnten wir schließlich 0.7 *g* reines Phytosterin erhalten, was einer Ausbeute von 0.23 pro mille gleichkommt. Aus Alkohol, Aceton, Essigester krystallisiert es in farblosen Nadeln oder glänzenden Schuppen, die bei 133° schmelzen. Im wesentlichen glich dieser Körper dem aus *radix bardanae* isolierten, sowohl in den Löslichkeitsverhältnissen als in der Krystallform und den Farbreaktionen. Die Digitonidreaktion fiel wie bei *radix bardanae* positiv aus.

Es wurde daher in der gleichen Weise versucht, den Körper auf seine Einheitlichkeit zu prüfen. Nach Veresterung mit Essigsäureanhydrid und Bromaddition in Äther-Eisessiglösung krystallisierte aus dem Reaktionsgemisch ein Körper vom Zersetzungspunkt 210°, der im Mischschmelzpunkt mit dem Tetra-brom-stigmasterin-acetat keine Depression ergab und dessen Analysen auf einen solchen Körper gut stimmten. Auch hinsichtlich der Krystallform und in den Löslichkeitsverhältnissen zeigte er völlige Übereinstimmung. Während bei *radix bardanae* der Prozentgehalt der beiden Komponenten ungefähr der gleiche war, bestand das bei *figus carica* vorliegende Gemenge nur zu zirka 10% aus Stigmasterin. Dem Umstand dürfte es auch zuzuschreiben sein, daß diesmal schon eine einmalige Bromierung genügte, die erste Komponente vollständig zu entfernen.

In der üblichen Weise wurde das Filtrat, das die zweite Komponente enthalten sollte, aufgearbeitet. Das durch Ausfällen mit Wasser gewonnene Acetat sowie der daraus dargestellte Alkohol zeigten völlige Übereinstimmung mit den entsprechenden Sitosterinprodukten. Der Vollständigkeit halber veresterten wir das freie Sitosterin aus *figus carica* mit dem Benzoyl- und dem Anisylrest und neuerlich mit dem Acetylrest; auch diese Ester zeigten in jeder Hinsicht völlige Übereinstimmung mit den auf die gleiche Weise dargestellten entsprechenden Sitosterinprodukten. Hiedurch glauben wir genügend bewiesen zu haben, daß auch die Sterine aus den Blättern und Stengeln von *figus carica* aus einem Gemenge von Sitosterin und Stigmasterin bestehen.

3. Über die Sterine aus *ulmus campestris*.

Schließlich isolierten wir noch das Sterin aus *ulmus campestris*. Hauptsächlich, weil in der Arbeit von Schmid und Stöhr¹ aus Materialmangel seinerzeit nur das Stigmasterin sicher nachgewiesen werden konnte. Um über den damals noch ungeklärt gebliebenen Anteil etwas Sicheres aussagen zu können, führten wir die Extraktion von Rindenmaterial neuerlich durch. Wir extrahierten 800 g fein gemahlene, getrocknete Rinden mit siedendem Alkohol, schieden durch Wasserzusatz die sterinhaltigen Teile ab, die getrocknet und mit Petroläther zerlegt wurden. Im Petrolätherauszug fanden wir im wesentlichen zwei Körper: das Phytosterin (zirka 0.1 g) und einen Körper vom Schmelzpunkt 240°, der nicht weiter untersucht wurde. Die Abscheidung der ersten Komponente, des Stigmasterins, erfolgte in genau der gleichen Weise, wie sie Schmid und Stöhr¹ schon beschrieben haben. Das aus dem Filtrat vom Tetra-brom-stigmasterin-acetat auf die übliche Weise isolierte Acetat der zweiten Komponente war noch stark verunreinigt mit Stigmasterinpartien, so daß sich eine neuerliche Trennung über die bromierten Ester als notwendig erwies. Nunmehr konnten wir schließlich durch vorsichtigen Wasserzusatz ein Acetat ausfällen, dessen Schmelzpunkt bei 127° gelegen war. Mischschmelzpunkt dieses Acetats mit Sitosterinacetat aus Weizenkeimlingen ergab keine Depression, die Verbrennung ergab Werte, die mit einem solchen Körper gut übereinstimmen. Auch der aus diesem Acetat durch Verseifen mit 10%iger alkoholischer Lauge bereitete Alkohol sowie dessen Benzoat und Acetat zeigten weitestgehende Übereinstimmung mit den entsprechenden Sitosterinprodukten, so daß die zweite Komponente des Phytosterins aus *ulmus campestris* als Sitosterin erkannt wurde.

Sowohl die Feigenblätter wie auch die Ulmenrinden wurden uns in liebenswürdiger Weise von Frau Gabriele Boesch aus ihrem Wiener Garten zur Verfügung gestellt, wofür wir unseren Dank aussprechen.

Beschreibung der Versuche.

1. Die Sterine aus *radix bardanae*.

Isolierung des Ausgangsmaterials.

5 kg fein gemahlene, getrocknete Klettenwurzel wurden so lange mit Alkohol ausgekocht, bis die Extraktion eine vollständige geworden war. Die alkoholische Lösung wurde heiß filtriert und der Alkohol abdestilliert. Der Extrakt wurde mit Wasser behandelt, um die wasserlöslichen Teile zu entfernen. Das Ungelöste wurde scharf im Vakuum bei 70° über P₂O₅ getrocknet. Die trockenen Partien wurden zu einem Pulver

¹ B., 59, 1406 (1926).

zerkleinert und in einem Rundkolben mit den bei 40° übergehenden Fraktionen des Petroläthers mehrmals ausgekocht. Die Petrolätherlösung wurde auf ein kleines Volum eingeeengt und mit dem dreifachen Volum 10%iger alkalischer Kalilauge durch 24stündiges Kochen verseift. Aus der so behandelten Lösung schieden wir durch Wasserzusatz alle sterinhaltigen Teile ab, die allerdings noch stark verunreinigt waren. Diese so erhaltenen Partien wurden am Wasserbad getrocknet und mit heißem Aceton aufgenommen. Beim freiwilligen Abdunsten in Krystallisierschalen schied sich eine gelb gefärbte, teilweise krystallinische Masse ab, die abgesaugt und in Alkohol mehrmals mit Tierkohle gekocht wurde. Nach Abfiltrieren von der Tierkohle schied sich beim Erkalten und langsamen Abdunsten des Alkohols ein farbloses, krystallinisches Produkt ab, dessen Schmelzpunkt nach wechselndem Umkrystallisieren aus Aceton, Petroläther und Alkohol bei 132° gelegen war. Durch vollständiges Aufarbeiten der Mutterlaugen hatten wir schließlich 1 g reine Substanz in Händen.

Acetylierung des Gemenges.

Zirka 0.9 g auf obige Weise dargestelltes Phytosterin wurden 2 Stunden am Rückflußkühler mit zirka 30 g Essigsäureanhydrid erhitzt, das überschüssige Essigsäureanhydrid abdestilliert und erkalten gelassen. Nach kurzer Zeit schied sich das Acetylprodukt in glänzenden Schuppen ab, die abgesaugt und aus Alkohol umkrystallisiert wurden. Schmelzpunkt lag bei 119°.

Bromierung der Acetate.

0.8 g auf obige Weise dargestelltes Acetatgemisch lösten wir in möglichst wenig Äther und versetzten die Lösung so lange tropfenweise mit einer Lösung von 5 g Brom in 100 cm³ Eisessig, bis die Bromfärbung eben bestehen blieb. Es machte sich ein erheblicher Bromverbrauch bemerkbar und nach kurzer Zeit schieden sich Krystalle ab, die nach 12stündigem Stehen abgesaugt wurden. Aus Chloroform-Alkohol mehrmals umkrystallisiert, zeigten diese Krystalle den Zersetzungspunkt 209—210°. Sie wurden nun nochmals aus Benzol umkrystallisiert, wobei der Schmelzpunkt unverändert bei 210° gefunden wurde. Mischschmelzpunkt mit Tetra-brom-stigmasterin-acetat aus Calabarbohnen ergab keine Depression.

5.076 mg Substanz gaben 9.028 mg CO₂, 2.821 mg H₂O.

Ber.: 48.86% C, 6.41% H.

Gef.: 48.52% C, 6.22% H.

Acetat der zweiten Komponente.

Das Filtrat vom Tetra-brom-stigmasterin-acetat, das die zweite Komponente als Dibromid enthalten sollte, wurde nun

mit 4%igem Natriumamalgam bis zur Entfärbung versetzt, vom Quecksilber abgegossen und 3 Stunden am Rückflußkühler mit Zinkstaub gekocht, um eine vollständige Entbromung zu bewirken. Dann wurde vom Zinkstaub abfiltriert und das Acetat durch vorsichtigen Wasserzusatz ausgefällt. Nun wurde die Bromierung wiederholt, um noch vorhandene Teile der ersten Komponente zu entfernen und in der gleichen Weise das nun völlig reine Acetat abgeschieden. Dieses Acetat der zweiten Komponente zeigte, aus Alkohol umkrystallisiert, den Schmelzpunkt 127° , dem ein Weichwerden bei $124\text{--}5^{\circ}$ voranging. Mischschmelzpunkt mit Sitosterinacetat aus Weizenkeimlingen lag gleichfalls bei 127° .

3.986 mg Substanz gaben 11.900 mg CO_2 , 3.950 mg H_2O .

Ber.: 81.31% C, 11.22% H.

Gef.: 81.45% C, 11.09% H.

Alkohol aus dem Acetat der zweiten Komponente.

Wir verseiften durch zweistündiges Kochen mit 10%iger alkoholischer Kalilauge das Acetat vom F. P. 127° und gelangten zu einem Alkohol vom F. P. 137° , der im Mischschmelzpunkt mit Sitosterin aus Weizenkeimlingen keine Depression ergab.

4.360 mg Substanz ergaben 13.350 mg CO_2 , 4.773 mg H_2O .

Ber.: 83.93% C, 11.91% H.

Gef.: 83.53% C, 12.25% H.

Benzoat.

0.1 g Alkohol wurden in einem offenen Rundkolben mit 0.15 g Benzoesäureanhydrid 2 Stunden am Ölbad auf 150° erhitzt. Die Schmelze erstarrte zu einem Kuchen, der in Äther aufgenommen wurde. Aus der ätherischen Lösung wurde durch Zusatz von Alkohol das Benzoat abgeschieden. Nach Umkrystallisieren aus Chloroformalkohol und Ätheralkohol wies es den F. P. 144° auf, In gleicher Weise wurde das Benzoat des Sitosterins aus Weizenkeimlingen dargestellt, das auch bei 144° schmolz. Mischschmelzpunkt mit unserem Präparat ergab keine Depression.

Anisester.

0.2 g Alkohol wurden in 0.2 g Pyridin gelöst und mit 0.2 g Anissäurechlorid tropfenweise versetzt. Nach 12stündigem Stehen wurde das Reaktionsprodukt in verdünnte Schwefelsäure eingetropft, wobei der Anisester in weißen Flocken ausfällt. Aus Chloroformalkohol hat er den F. P. $147\text{--}148^{\circ}$, der

mit dem von Schmid und Waschka u¹ gefundenen Schmelzpunkt des Sitosterinanisats aus Rüböl übereinstimmt und im Mischschmelzpunkt mit genanntem Präparat keine Depression ergab.

2. Über die Sterine aus ficus carica.

Isolierung des Ausgangsmaterials.

Wir sammelten in einem Wiener Garten 10 kg Feigenblätter und -stengel und trockneten die Pflanzen in einem Trockenschrank bei 70°, wobei wir zirka 3 kg Trockenmaterial erhielten. Das zu einem Pulver zermahlene Material unterwarfen wir nun einer erschöpfenden Extraktion mit siedendem Alkohol. Nach Abdampfen des Alkohols hinterblieb eine schwarzgrüne sirupöse Flüssigkeit, die mit Wasser behandelt wurde. Die wasserunlöslichen Teile wurden 36 Stunden im Vakuum über P₂O₅ bei 70° getrocknet. Sie bildeten jetzt eine dicke, tiefschwarze Masse, die mit Petroläther fast nicht mischbar war. Wir mußten daher von der gebräuchlichen Methode, nun mit Petroläther zu extrahieren, abweichen und verseiften die Extrakte durch 24stündiges Kochen mit dem dreifachen Volum 10%iger alkoholischer Kalilauge, filtrierten das Reaktionsprodukt und verdünnten es auf das Zehnfache seines Volums mit Wasser. Erst bei dieser Konzentration schieden sich die Sterine ab, die nach einigem Stehen an die Oberfläche der Flüssigkeit traten, während die Lösung selbst klar war und abgelassen werden konnte. Die abgeschiedenen Teile wurden nun scharf getrocknet und bildeten jetzt eine braune, glasige Masse, die sich pulverisieren ließ. Durch abwechselndes Umkrystallisieren aus Alkohol, Petroläther und Aceton erhielten wir ein bei 90° schmelzendes Produkt, das unter dem Mikroskop schon stellenweise Krystalle erkennen ließ. Dieses Produkt nahmen wir mit heißem Essigester auf, fügten das dreifache Volum Alkohol hinzu und ließen es mehrere Tage stehen. Aus einem solchen Gemenge schieden sich regelmäßig nach längerem Stehen neben einer amorphen Masse Krystalle in Form von Nadeln und rosettenförmigen Büscheln ab, die durch Dekantieren und Waschen mit 80% Alkohol von der Flüssigkeit und dem amorphen Niederschlag leicht zu trennen waren. Sie schmolzen auch nach öfterem Umkrystallisieren bei 133°, nachdem ein Weichwerden bei 129° zu beobachten war. Sie zeigten die Digitonidreaktion. Durch vollständiges Aufarbeiten der Mutterlaugen hatten wir schließlich 0.8 g reine Substanz in Händen.

Bromierung der Acetate.

Betreffs Darstellung des Acetatgemisches, das bei 119° schmolz, und Trennung der Komponenten verweisen wir auf

¹ Schmid und Waschka u, M., 48, p. 139 (1927).

radix bardanae. In gleicher Weise verfahren wir auch bei ficus carica. Nur erwies sich hier schon eine einmalige Bromierung als genügend, um das Stigmasterin zu entfernen, offenbar weil das Stigmasterin nur in geringen Mengen vorlag.

Tetra-brom-stigmasterin-acetat.

Der Zersetzungspunkt lag nach Umkrystallisieren aus Benzol bei 209°. Mischschmelzpunkt mit Tetrabromstigmasterin-acetat aus Calabarbohnen ergab keine Depression.

4·250 mg Substanz gaben 7·667 mg CO₂, 2·537 mg H₂O.

Ber.: 48·86% C, 6·41% H.

Gef.: 49·22% C, 6·68% H.

Acetat der zweiten Komponente.

In gleicher Weise wie bei radix bardanae wurde das Acetat dargestellt. Schmelzpunkt lag bei 127°, nachdem bei 124·5° ein Weichwerden zu beobachten war. Mischschmelzpunkt mit Sitosterinacetat aus Weizenkeimlingen lag ebenfalls bei 127°.

2·110 mg Substanz gaben 6·245 mg CO₂, 2·142 mg H₂O.

Ber.: 81·31% C, 11·22% H.

Gef.: 80·74% C, 11·35% H.

Alkohol aus dem Acetat.

0·2 g Acetat wurden mit 20 cm³ einer 10%igen alkoholischen Kalilauge zwei Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Beim Abkühlen schieden sich Kristalle ab, die, mehrmals aus Alkohol umkrystallisiert, den Schmelzpunkt 137° zeigten. Der Mischschmelzpunkt mit Sitosterin aus Weizenkeimlingen lag gleichfalls bei 137°.

4·625 mg Substanz gaben 14·100 mg CO₂, 4·913 mg H₂O.

Ber.: 83·93% C, 11·91% H.

Gef.: 83·17% C, 11·89% H.

3. Die Sterine aus ulmus campestris.

Isolierung des Ausgangsmaterials.

Zur Untersuchung gelangten 800 g getrocknete Ulmenrinde. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei radix bardanae. Im Petrolätherextrakt wurde neben dem Phytosterin noch ein zweiter Körper vom F. P. 240° gefunden, der nicht weiter untersucht wurde, da er keine Digitonidreaktion gab. Vom Phytosterin war er wegen seiner geringen Löslichkeit in Aceton leicht zu trennen. Das Phytosterin war in Aceton wie auch in Alkohol und Petroläther bei Erwärmung leicht löslich und fiel beim Erkalten in glänzenden Schuppen vom Schmelzpunkt 134—135° aus. Wir hatten zirka 0·15 g krystallisiertes Produkt zur Verfügung. Durch zweistündiges Kochen mit Essigsäureanhydrid

führten wir es in das Acetylprodukt über, das beim Erkalten krystallisierte und abgesaugt wurde.

Betreffs der Bromierung verweisen wir auf die Arbeit von Schmid und Stöhr¹. In der gleichen Weise schieden wir die erste Komponente als Tetrabromstigmasterinacetat ab, die nicht weiter untersucht wurde. Das Filtrat wurde in der schon bei radix bardanae und ficus carica beschriebenen Weise aufgearbeitet.

Acetat der zweiten Komponente.

Wie bei radix bardanae und ficus carica wurde aus dem Filtrat vom Tetrabromstigmasterinacetat das Acetat gewonnen. F. P. lag bei 127°, dem ein Sintern bei 124·5° voranging. Mischschmelzpunkt mit Sitosterinacetat aus Weizenkeimlingen lag auch bei 127°.

Alkohol aus dem Acetat.

Betreffs Darstellung des Alkohols aus dem Acetat verweisen wir auf radix bardanae. F. P. lag bei 137°. Mischschmelzpunkt mit Sitosterin aus Weizenkeimlingen lag gleichfalls bei 137°.

4·160 mg Substanz gaben 12·762 mg CO₂, 4·500 mg H₂O.

Ber.: 83·93% C, 11·91% H.

Gef.: 83·69% C, 12·11% H.

Benzoat.

Betreffs Darstellung verweisen wir auf radix bardanae. Schmelzpunkt lag bei 144°. Mischschmelzpunkt mit Sitosterinbenzoat aus Weizenkeimlingen, das auf die gleiche Weise dargestellt worden war, lag gleichfalls bei 144°.

¹ Schmid-Stöhr, B., 59, 1407.