

Über Gossypol

Von

LEOPOLD SCHMID und SIEGMUND MARGULIES

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Eingelangt am 7. Februar 1935. Vorgelegt in der Sitzung am 7. Februar 1935)

Das Gossypol gelangt beim Auspressen der Baumwollsaamen in das Kottonöl und verursacht dessen Giftigkeit beim Genuß. Die toxischen Eigenschaften sind von CLARK¹ an Tierversuchen studiert worden. Sein Nachweis gelingt schon in Spuren durch Blutrotfärbung mit konzentrierter Schwefelsäure. Es ist ein gelber Farbstoff, dessen Vorkommen ausschließlich auf die Baumwollsaamen beschränkt erscheint.

Die ersten Versuche zur Reindarstellung stammen von MARCHLEWSKI², der eine Formel $C_{13}H_{14}O_4$ vorschlug. Auch von KUHLMANN³ liegen Untersuchungen vor. CARRUTH⁴, CLARK⁵ und KARRER⁶ haben die Reindarstellung eingehend ausgearbeitet, so daß wir uns im wesentlichen an die Angaben jener Forscher halten konnten.

Die entfetteten Baumwollsaamen wurden mit Äther ausgezogen, worin Gossypol sehr leicht löslich ist. Die Lösung ist rot. Aus den eingeeengten Ätherauszügen scheidet sich nach Zugabe von Eisessig eine sehr gut kristallisierende Additionsverbindung ab. Sie wird durch heißes Wasser wieder in Gossypol und Essigsäure gespalten; durch Lösen in Äther und Fällen mit Petroläther werden die letzten Fettsuren entfernt; dabei wird Gossypol kristallin erhalten.

Unsere erste Aufgabe bestand in der Überprüfung der Bruttoformel, da für eine solche verschiedene Angaben zu finden sind.

MARCHLEWSKI ² :	$C_{13}H_{14}O_4$ bzw. $C_{32}H_{34}O_{10}$;
CARRUTH ⁴ :	$C_{30}H_{30}O_9$ bzw. $C_{30}H_{28}O_9$;
CLARK ¹ :	$C_{30}H_{30}O_8$;
KARRER ⁶ :	$C_{30}H_{20}O_8$;
TADROS ⁷ :	$C_{30}H_{30}O_8$ bzw. $C_{30}H_{32}O_8$.

¹ CLARK, Journ. Biol. Chem. 75, 1927, S. 725.

² MARCHLEWSKI, J. prakt. Chem. 60, 1889, S. 84.

³ KUHLMANN, Compt. rend. 53, 1861, S. 444.

⁴ CARRUTH, Journ. Amer. Chem. Soc. 40, 1918, S. 647.

⁵ CLARK, Journ. Biol. Chem. 75, 1927, S. 725; 76, 1928, S. 229; 77, 1928, S. 81; 78, 1928, S. 159.

⁶ KARRER, Helv. chim. Acta 15, 1932, S. 1204.

⁷ F. TADROS, Dissertation, Wien 1932.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen von CLARK und KARRER machen auch unsere Analysen die Formel $C_{30}H_{30}O_8$ wahrscheinlich.

Eine ZEREWITINOFF-Bestimmung sollte einen Beitrag zur Funktion der Sauerstoffatome geben. Bei Raumtemperatur konnten 5, bei 80° 6 OH-Gruppen nachgewiesen werden.

Die Formel $C_{30}H_{30}O_8$ läßt auf eine ungesättigte Verbindung schließen. Bei der Hydrierung erfolgte die Wasserstoffaufnahme zuerst sehr rasch, bis eine Doppelbindung abgesättigt war, dann viel langsamer, bis schließlich 3 Mol H_2 eingetreten waren. Beim Vakuum-schmelzpunkt beginnt sich das Hydrogossypol bei 240° dunkel zu färben, und es zersetzt sich bei 320° im Kupferblock. Molekulargewichtsbestimmung ergibt 528·7 gegenüber der Berechnung von 524·3 für $C_{30}H_{30}O_8$. Auch für Hydrogossypol zeigt die ZEREWITINOFF-Bestimmung bei Raumtemperatur 5, bei 80° 6 OH-Gruppen an.

Zum Unterschied vom Gossypol gibt das Hydrogossypol keine Anlagerungsverbindung mit Essigsäure.

Der Hydrokörper schien einerseits geeignet, durch Darstellung funktioneller Abkömmlinge zur Sicherung der Bruttoformel Beiträge zu liefern, andererseits war er ein Ausgangsmaterial für weitere Abbauprobungen.

Ein Azetylkörper, Zersetzungspunkt 235°, war durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin leicht zugänglich. Es waren 6 Azetylgruppen eingetreten, wie eine Verbrennung und Mikroazetylbestimmung erwiesen. Methylierungsversuche mit Diazomethan waren zur Ermittlung der Sauerstofffunktionen nicht auszuwerten, da erstens die Methylierung nur zu einem Gehalt von 17·5% CH_3O geführt hatte und gleichzeitig Stickstoff im Reaktionsprodukt nachzuweisen war.

Durch Umsetzung von Gossypol mit *o*-Phenylendiamin konnte KARRER⁶ eine Chinoxalinverbindung darstellen, die zwei benachbarte CO-Gruppen annehmen läßt. Unser Versuch, aus dem Hydrogossypol eine ähnliche Verbindung darzustellen, ergab, daß nur 1 Mol H_2O ausgetreten war.

Bei den folgenden tiefer gehenden Umsetzungen wurde das Hydrogossypol verwendet.

In sechs Versuchen zu je 0·5 g wurden Zinkstaubdestillationen ausgeführt. Bei jedem Versuch konnten wir einen Kohlenwasserstoff I, Kochpunkt 140—150°/12 mm, nachweisen. Bei zwei Versuchen war auch zwischen 180—190°/12 mm in Spuren ein gelbes, bald zu Kristallen erstarrendes Öl II übergegangen. Die Analyse von II läßt auf

eine sauerstoffhaltige Verbindung schließen. Da II nicht immer nachzuweisen war, ist ihr Auftreten vielleicht in der nicht genügenden Reduktion des Ausgangsmaterials begründet. I stand für weitere Versuche in der Menge von 0.1 g zur Verfügung. I gab kein Pikrat, kein Styphnat, weder eine 2, 7-Dinitroanthrachinonverbindung noch ein Dinitrobenzoat.

Analyse: 91.10% C, 9.00% H, Mol-Gew. 194.4. Refraktion in Benzol 0.3465. Die Farbreaktion mit konzentrierter Schwefelsäure ist blutrot. Dies ist deshalb bemerkenswert, weil auch Gossypol und Hydrogossypol diese Erscheinung zeigen.

Literaturstudium gab Hinweise, daß I ein β -Isoamyl-naphthalin sein könnte; allerdings mit der Einschränkung, daß I kein Pikrat gab, während für β -Isoamyl-naphthalin ein solches vom Schmelzpunkt 110 bis 112° beschrieben ist. Wir stellten uns zu Vergleichszwecken diesen Kohlenwasserstoff nach Angaben von Roux⁸ dar. Ergebnislose Versuche, daraus ein Pikrat, Styphnat, Dinitrobenzoat und eine 2, 7-Dinitroanthrachinonverbindung zu bereiten, veranlassen uns, die Angaben^{8, 9, 10} dahin zu berichtigen, daß β -Isoamyl-naphthalin kein Pikrat gibt. Der Schmelzpunkt 110—112° läßt es möglich erscheinen, daß jene Autoren^{8, 10} unreine Pikrinsäure in Händen hatten.

Der synthetische Kohlenwasserstoff gab mit I Übereinstimmung bezüglich Analyse, Mol-Gew.-Bestimmung, Siedepunkt, Farbreaktion mit konzentrierter Schwefelsäure und Refraktion. Da nun eine sichere Identifizierung von I für das Gossypolproblem von Bedeutung ist, so war uns daran gelegen, an einem kristallinen Abkömmling durch Mischprobe den Befund zu stützen. Nach verschiedenen Versuchen am synthetischen Produkt, die hier nicht näher beschrieben werden sollen, war uns ein kristallines Bromderivat für den Vergleich zugänglich. Sein Schmelzpunkt war 70—72°. In gleicher Weise läßt sich I bromieren; auch dessen Schmelzpunkt lag bei 70—72°. Mischprobe 68—71°. Somit ist I als β -Isoamyl-naphthalin identifiziert.

Die Bruttoformel des β -Isoamyl-naphthalins ist $C_{15}H_{18}$. Somit ist die Lage von 15 C-Atomen festgelegt. Für den Fall, daß zwei Isoamyl-naphthaline am Hydrogossypolaufbau beteiligt sind, wäre eine Aussage über 30 C-Atome möglich.

Schließlich wurde das Hydrogossypol mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung oxydiert. Während der Reaktion war deutlich

⁸ ROUX, Ann. chim. (6) 12, S. 319.

⁹ BEILSTEIN'S Handbuch, 4. Auflage, Bd. V, System Nr. 478 a.

¹⁰ ODDO BARABINI, Gazz. chim. 20, 1890, S. 719.

Aldehydgeruch zu spüren, ohne daß ein solcher hätte gefaßt werden können. An flüchtigen Oxydationsprodukten war eine zwischen 70 und 80°/12 mm destillierende Fraktion nachzuweisen, die durch Äquivalentgewichtsbestimmung und Herstellung des *p*-Bromazetophenonesters (Schmelzpunkt und Mischprobe 64—65°) als *n*-Buttersäure erkannt wurde.

Nach Abtrennung der Buttersäure verblieb ein nicht destillierbarer Rückstand, der mit 15%igem H₂O₂ weiteroxydiert wurde. Auch dabei wurde noch eine geringe Menge Buttersäure gebildet, neben Spuren einer zwischen 130 und 140°/12 mm destillierenden Fraktion, die zu Kristallen erstarrte.

Der Rückstand wurde nun weiter mit 30%igem H₂O₂ oxydiert. Im Destillat waren die gleichen Kristalle nachzuweisen. Ausbeute 20 mg, womit eine Identifizierung nicht möglich war. Verbindungscharakter ist der einer Säure.

Das nicht destillierbare Reaktionsprodukt zersetzte sich im Vakuumröhrchen bei 170°, nach Sintern bei 155°. Eine Mol-Gew.-Bestimmung ergab 483 bzw. 498. Die Titration läßt eine zweibasische Säure annehmen. Weitere Versuche zur Darstellung funktioneller Derivate scheiterten an Substanzmangel. Wir wollen daher auf Grund der analytischen Befunde allein keine Formel in Vorschlag bringen, sondern diese Frage mit neuem Ausgangsmaterial weiterbearbeiten.

Beschreibung der Versuche.

Reindarstellung⁷:

10 kg Bauwollsamens aus ägyptischer Ernte des Jahres 1932 wurden zerkleinert und mit Petroläther, Kochpunkt 60°, entfettet. Diesen entzogen wir das Gossypol mit Äther, der sich dabei rot anfärbt. Der Ätherauszug wurde auf 150 cm³ eingeengt und mit 50 cm³ Eisessig versetzt. Es fällt ein lichtgelbes kristallisiertes Produkt aus. Dieses nahmen wir mit Alkohol auf und behandelten die Lösung mit Wasserdampf. Dabei spaltet sich die Essigsäure ab, während das Gossypol ausfällt. Das getrocknete Gossypol wurde in Äther gelöst, um es daraus mit Petroläther auszufällen. Nach dreimaligem Umlösen aus Äther - Petroläther zeigten die Kristalle im Vakuumröhrchen den konstanten Zersetzungspunkt 184°. Ausbeute 20 g. Mit konzentrierter Schwefelsäure geben Spuren von Gossypol eine blutrote Färbung. FEHLINGSCHHE Lösung wird in der Wärme reduziert. Alkalische Lösungen werden schon an der Luft oxydiert.

4·485 *mg* Substanz gaben 11·457 *mg* CO₂ und 2·343 *mg* H₂O.

Ber. für C₃₀H₃₀O₈: C 69·48, H 5·83%.

Gef.: C 69·67, H 5·97%.

0·1220 *g* Substanz, in Pyridin gelöst, gaben (ZEREWITINOFF) 27·9 *cm*³ Methan, 18°/753 *mm*, nach Umsetzung bei 80° 31·8 *cm*³ Methan, 18°/753 *mm*.

Ber. für C₃₀H₂₅O₈(OH)₅: OH 16·40% ; für C₃₀H₂₄O₂(OH)₆: OH 19·70%.

Gef.: OH 16·27 und 18·50%.

Das zurückgewonnene Gossypol hatte nach dem Umfällen aus Äther - Petroläther wieder den Zersetzungspunkt 184°.

Hydrierung⁷.

2·105 *g* Gossypol wurden in 100 *cm*³ absolutem Alkohol gelöst und mit 20%iger Palladiumkohle versetzt. 100 *cm*³ H₂ nahm die Lösung in einer Stunde auf; die restlichen 195 *cm*³ H₂ waren erst nach 35 Stunden aufgenommen. Berechnet für drei Doppelbindungen 274 *cm*³ H₂. Hierauf wurde die Lösung filtriert, auf etwa 30 *cm*³ eingengt und in 1000 *cm*³ schwach angesäuertes Wasser eingegossen. Der ausgefallene lichtgelbe Niederschlag wurde filtriert und getrocknet. Nach Lösen in Äther und Ausfällen mit Petroläther erhielten wir ein kristallines Produkt, das sich im Vakuumröhrchen bei 320° zersetzte, nachdem schon von 240° an eine Dunkelfärbung zu bemerken war.

Das Hydrogossypol zeigt ebenfalls die charakteristische Blutrotfärbung mit konzentrierter H₂SO₄.

4·576 *mg* Substanz gaben 11·468 *mg* CO₂ und 2·728 *mg* H₂O

4·785 *mg* „ „ „ 11·950 *mg* CO₂ „ „ 2·826 *mg* H₂O.

Ber. für C₃₀H₃₆O₈: C 68·66, H 6·92%.

Gef.: C 68·36, 68·17, H 6·67, 6·61%.

0·959 *mg* Substanz gaben in 14·93 *mg* Tetrahydro- α -dizycklopentadienon-3 gelöst (PIRSCH¹¹), eine Erniedrigung des Schmelzpunktes von 6·90°.

Ber. für C₃₀H₃₆O₈: Mol-Gew. 524·3.

Gef.: 528·7.

0·1267 *g* Substanz, in Pyridin gelöst, gaben (ZEREWITINOFF) 29 *cm*³ Methan, 16°/753 *mm*, nach Umsetzung bei 80° 33 *cm*³ Methan, 16°/753 *mm*.

0·1053 *g* Substanz, in Pyridin gelöst, gaben 25·2 *cm*³ Methan, 18°/753 *mm*, nach Umsetzung bei 80° 29·6 *cm*³ Methan, 18°/753 *mm*.

Ber. für C₃₀H₃₁O₈(OH)₅: OH 16·40% , für C₃₀H₃₀O₂(OH)₆: OH 19·70% .

Gef.: OH 16·37, 18·62, 16·99, 19·96% .

Das zurückgewonnene Hydrogossypol zersetzt sich im Vakuumröhrchen bei 320°, nach Sinterung bei 240°.

¹¹ PIRSCH, Ber. D. ch. G. 67, 1934, S. 1115.

Azetylierung des Hydrogossypols.

0.130 *g* Hydrogossypol wurden in 3 *cm*³ Pyridin gelöst und mit 1 *cm*³ Essigsäureanhydrid versetzt. Nach Stehen über Nacht ließen wir das Reaktionsprodukt im Vakuum eindunsten. Der Rückstand wurde sodann aus Methanol umgelöst. In einem zweiten Versuch lösten wir 0.1 *g* Hydrogossypol in 3 *cm*³ Pyridin, versetzten die Lösung mit 1 *cm*³ Essigsäureanhydrid und erhitzen sie kurze Zeit zum Sieden. Das Reaktionsprodukt wurde über Nacht stehengelassen und dann auf Eis gegossen, filtriert, getrocknet und aus Methanol umgelöst.

Im Vakuumröhrchen zeigten die aus beiden Versuchen sowie die aus den Mutterlaugen erhaltenen Azetylprodukte allein und auch bei der Mischprobe den gleichen Zersetzungspunkt von 235°.

Mikroazetylbestimmung nach PREGL:

2.923 <i>mg</i> Substanz	verbrauchten	2.41 <i>cm</i> ³	1/100 <i>n</i> Natronlauge
3.970 <i>mg</i> Substanz	„	3.22 <i>cm</i> ³	1/100 <i>n</i> Natronlauge.
Ber. für 6 Azetylgruppen:		33.58 %	Azetyl
„ „ 5	„	27.99 %	„
„ „ 7	„	39.20 %	„
Gef.:		34.77, 34.89 %	Azetyl.
4.271 <i>mg</i> Substanz	gaben	10.153 <i>mg</i> CO ₂	und 2.447 <i>mg</i> H ₂ O.
Ber. für C ₄₂ H ₄₈ O ₁₄ :		C 64.95, H 6.20 %.	
Gef.:		C 64.84, H 5.40 %.	

Zinkstaubdestillation.

0.5 *g* Hydrogossypol wurden mit der 20fachen Menge Zinkstaub gut verrieben; der Mischung wurde in einem Verbrennungsrohr eine 15 *cm* lange Schicht aus reinem Zinkstaub vorgelegt. Das ganze wurde in einem mit KMnO₄ gewaschenen Wasserstoffstrom auf schwache Rotglut so lange erhitzt, als ein Destillat übergang. Das Reaktionsprodukt war ölig und erstarrte in der Kälte teilweise. Beim Auflösen in Äther zeigte es grüne Fluoreszenz. Nach dem Verdampfen des Äthers destillierte bei 140°/12 *mm* ein lichtgelbes Öl (I), Ausbeute 0.02 *g*. Eine zweite Fraktion (II) ging bei 180°/12 *mm* über. Es wurden sechs Zinkstaubdestillationen mit je 0.5 *g* ausgeführt und die Reaktionsprodukte gemeinsam aufgearbeitet. Beide Fraktionen wurden zur weiteren Reinigung mehrfach im Vakuum destilliert.

II war in Äther schwer löslich und wurde durch Waschen mit eisgekühltem Äther weitergereinigt. Nach nochmaliger Destillation lag der Schmelzpunkt bei 234—238°.

0.930 *mg* Substanz gaben 2.970 *mg* CO₂ und 0.595 *mg* H₂O.
Gef.: C 87.1 %, H 7.16 %.

I wurde durch Destillation bei $140^{\circ}/12\text{ mm}$ gereinigt. Ausbeute $0\cdot1\text{ g}$. Mit konzentrierter H_2SO_4 tritt Rotfärbung auf.

$4\cdot850\text{ mg}$ Substanz gaben $16\cdot200\text{ mg CO}_2$ und $3\cdot903\text{ mg H}_2\text{O}$.

Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{18}$: C $90\cdot86$, H $9\cdot15\%$.

Gef.: C $91\cdot10$, H $9\cdot00\%$.

$1\cdot104\text{ mg}$ Substanz gaben, in $13\cdot67\text{ mg}$ Isokamphan gelöst (PIRSCH¹²)' eine Erniedrigung des Schmelzpunktes von $18\cdot5^{\circ}$.

Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{18}$: Mol-Gew. $198\cdot14$.

Gef.: $194\cdot4$.

Molekularrefraktion in Benzol = $0\cdot3465$.

Das für Vergleichszwecke benötigte β -Isoamyl-naphthalin stellten wir nach den Angaben von ROUX⁸ dar; dieses zeigt in Benzol eine Molekularrefraktion von $0\cdot3472$.

Bromierung.

$0\cdot5\text{ g}$ synthetisches β -Isoamyl-naphthalin wurden auf dem Wasserbade tropfenweise mit Brom versetzt. Nachdem die Hauptreaktion vorbei war, gaben wir etwas Eisenpulver und dann wieder Brom zu. Es setzte neuerlich heftige Bromwasserstoffentwicklung ein; mit dem Bromzusatz wurde so lange fortgefahren, bis die Entwicklung aufhörte. Das überschüssige Brom konnte im Vakuum entfernt werden. Der Rückstand wurde in Äther gelöst, filtriert und mit Natriumkarbonat ausgeschüttelt. Eine anschließende Destillation gab nach einem Vorlauf bei $100^{\circ}/0\cdot4\text{ mm}$ zwischen 135 und $140^{\circ}/0\cdot4\text{ mm}$ ein farbloses Öl, das bald zu Kristallen erstarrte. Im Vakuumrohr lag der Schmelzpunkt bei $70\text{—}72^{\circ}$. Es blieb ein dunkler Destillationsrückstand, der nicht weiter untersucht wurde.

Aus dem Zinkstaubdestillat erhaltenes I wurde in gleicher Weise behandelt; die Bromierung führte zur gleichen Verbindung vom Schmelzpunkt $70\text{—}72^{\circ}$. Mischprobe: Erweichen bei 68° , klar geschmolzen bei 71° . Auch bei I war nach der Bromierung ein Destillationsrückstand von gleichen Eigenschaften zu beobachten.

Oxydation mit H_2O_2 .

1 g Hydrogossypol wurde in 90 cm^3 verdünnter Natronlauge gelöst und in der Kälte allmählich mit 36 cm^3 10% igem Wasserstoffperoxyd versetzt. Die ursprünglich braune Lösung erwärmt sich und wird dann langsam heller. Gleichzeitig war ein schwacher Aldehydgeruch zu spüren. Nach Stehen über Nacht zerstörten wir noch vorhandenes

¹² PIRSCH, Ber. D. ch. G. *66*, 1933, S. 1694.

H₂O₂ durch Kochen. Beim Zusatz von verdünnter Salzsäure fällt ein lichtgelber Niederschlag aus; Buttersäure ist am Geruch deutlich wahrzunehmen. Das ganze wurde in Äther aufgenommen, und nach dem Verjagen des Äthers destilliert. Bei 80°/12 mm ging eine nach Buttersäure riechende Flüssigkeit über. Ausbeute 0·03 g.

10·33 mg verbrauchten 11·54 cm³ 1/100 n Natronlauge.

Ber. für C₄H₈O₂: 11·73 cm³ 1/100 n Natronlauge.

Schmelzpunkt des *p*-Bromazetophenonesters 64—65°. Mischprobe 64—65°.

Der Destillationsrückstand wurde in 40 cm³ verdünnter Natronlauge gelöst, mit 36 cm³ 15%igem Wasserstoffsperoxyd versetzt und in gleicher Weise wie oben aufgearbeitet. Außer Spuren von Buttersäure war diesmal ein bei 130°/12 mm destillierendes Öl zu beobachten, das bald kristallisierte. Infolge geringer Ausbeute (0·02 g) konnten wir es nicht weiter untersuchen.

Der Destillationsrückstand wurde nunmehr mit Perhydrol wie oben weiter oxydiert. Nach Ansäuern, Ausäthern und Destillieren waren wieder bei 130°/12 mm die gleichen Kristalle in Spuren zu bemerken; die Hauptmenge war nicht destillierbar. Der Rückstand wurde in verdünnter Lauge gelöst, mit HCl gefällt und in Äther aufgenommen. Beim Ausschütteln mit NaHCO₃-Lösung geht alles in diese. Beim Ansäuern fallen weiße Flocken aus, die in Alkohol, Äther, Azeton leicht, in Benzol aber schwer löslich sind. Durch Aufnahme in Lauge und Fällen mit Säure, ferner nach Umfällen aus Alkohol durch Wasserzusatzen lag der Zersetzungspunkt sehr unscharf bei 170°, nachdem schon von 155° an ein Sintern zu beobachten war.

6·300 mg Substanz verbrauchten 2·33 cm³ 1/100 n NaOH

8·481 mg „ „ 3·18 cm³ 1/100 n NaOH

1 mg Substanz entspricht 0·148 bzw. 0·150 mg NaOH

0·0237 g und 0·0295 g Substanz gaben, in 12·354 g Phenol gelöst, eine Erniedrigung des Schmelzpunktes von 0·29° und 0·35°.

Ber. für C₂₅H₃₀O₁₀: Mol-Gew. 490·2.

Gef.: 483 und 498.

3·770 mg Substanz gaben 8·317 mg CO₂ und 1·841 mg H₂O

4·609 mg „ „ 10·110 mg CO₂ und 2·600 mg H₂O.

Ber. für C₂₅H₃₀O₁₀: C 61·19, H 6·17%.

Gef.: C 60·17, 59·84, H 5·46, 6·26%.