

Ueber einige Bestandtheile der Samenschalen von *Pisum sativum* und *Phaseolus vulgaris*.

Von

A. Likiernik.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 13. März 1891.)

Nachdem in den Samenschalen von *Lupinus luteus* das im vorigen Aufsatz besprochene Lupeol aufgefunden worden war, schien es angezeigt, auch die Schalen einiger anderer Leguminosensamen auf solche Körper zu untersuchen.

Zur Prüfung gelangten die Schalen von *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* und *Lens esculenta*.

In allen diesen Schalen fanden sich im Gegensatz zu denjenigen des *Lupinus luteus* Cholesterine¹⁾ vor, doch waren dieselben begleitet von anderen alkoholartigen Substanzen, deren Trennung von Cholesterinen jedoch mit beträchtlichen Schwierigkeiten verknüpft ist.

Genauer untersucht habe ich die aus den Samenschalen von *Pisum sativum* und *Phaseolus vulgaris* dargestellten Producte.

Die dabei erhaltenen Resultate theile ich im Folgenden mit.

I. Phytosterin aus den Samenschalen von *Pisum sativum*.

Die Samenschalen von *Pisum sativum*, von denen ich ein grösseres Quantum aus der Mühle der Herren Maggi & Cie. in Kempthal erhielt, wurden in der chemischen Fabrik des

¹⁾ Den Namen Cholesterine gebrauche ich hier, nach dem Vorgange Anderer, als Gruppenbezeichnung. Zur Gruppe der Cholesterine sind zu nehmen die aus dem Thierkörper dargestellten Substanzen dieses Namens (Gallensteincholesterin und Isocholesterin), sowie das Phytosterin und ähnliche aus den Pflanzen abgeschiedene Substanzen.

Herrn Siegfried in Zofingen mit Aether extrahirt. Der so erhaltene Aetherextract, welcher nach dem Abdestilliren des Aethers eine dunkelgrüne, fettig anzufühlende, zähe Masse bildete, war das Ausgangsmaterial für meine Versuche.

Ich erhitzte denselben mit alkoholischer Kalilauge, dunstete die erhaltene Lösung im Wasserbade bis zur Verjagung des Weingeistes ein, nahm den Verdampfungsrückstand in Wasser auf und schüttelte die Lösung mit Aether durch. Es entstand eine Emulsion, welche sich nach längerem Stehen in eine wässerige und eine ätherische Schicht trennte. Die letztere wurde abgehebert und der Destillation unterworfen, der Destillationsrückstand aus Weingeist krystallisirt. Es wurde so ein Product erhalten, welches die Eigenschaften eines Cholesterins zeigte. Der Schmelzpunkt desselben lag bei 128° C. Um ein möglichst reines Product zu erhalten, schien es auch hier angezeigt, eine Benzoylverbindung darzustellen, dieselbe durch Umkrystallisiren aus Aether zu reinigen und sodann wieder zu zerlegen.

Die Darstellung der genannten Verbindung erfolgte in derselben Weise wie beim Lupeol, durch Erhitzen des oben beschriebenen Products mit Benzoesäureanhydrid im zugeschmolzenen Rohr auf 160 — 170° C.

Das Reactionsproduct wurde unter Zusatz von Weingeist zerrieben, dann auf dem Filter in Aether gelöst, die Lösung zur Krystallisation gebracht.

Die so erhaltene Benzoylverbindung, welche aus ätherischer Lösung in Blättchen krystallisirt, zerlegte ich durch Erhitzen mit alkoholischem Kali, dunstete die so erhaltene Lösung ein und schüttelte den Verdampfungsrückstand mit Wasser und Aether durch. Nachdem sich die ätherische Lösung von der wässerigen getrennt hatte, wurde sie der Destillation unterworfen, der dabei erhaltene Rückstand aus Weingeist umkrystallisirt. So erhielt ich einen in glänzenden Nadeln krystallisirenden Körper, welcher in seinen Eigenschaften mit Phytosterin übereinstimmte. Derselbe schmolz bei 135° . Er gab sehr schön sowohl die Cholestolreaction, wie die Purpurrothfärbung beim Durchschütteln

seiner chloroformischen Lösung mit Schwefelsäure vom specif. Gewichte 1,76.

Auch die Schmelzpunkte der Benzoylverbindung und der gleichfalls von mir nach bekannter Methode dargestellten Acetylverbindung stimmten mit denjenigen der entsprechenden Phytosterinverbindungen überein. Der Schmelzpunkt der ersteren Verbindung wurde bei 145° C. gefunden, derjenige der Acetylverbindung bei 120° C., während nach den Angaben Jacobson's¹⁾ das Phytosterinbenzoat bei 145° C., nach Angaben von Hesse²⁾ das Phytosterinacetat bei 120° C., nach Jacobson bei 117 bis 118° C. schmilzt.

Es liegen also keine Gründe vor, um das von mir erhaltene Product für verschieden von dem aus Erbsensamen von Hesse und später auch von Jacobson dargestellten Phytosterin zu erklären. Da dieses Product einen mit demjenigen des Phytosterins übereinstimmenden Schmelzpunkt erst zeigte, nachdem es durch Ueberführung in die Benzoylverbindung und Wiederabscheidung aus derselben gereinigt worden war, so ist zu vermuthen, dass ihm ursprünglich noch ein anderer, zur Klasse der Alkohole gehörender Körper beigemischt war.

In dem bei Behandlung der Erbsenschalen mit Aether erhaltenen Rohextract fanden sich Glyceride nur in höchst geringer Menge vor. Ich wies dies dadurch nach, dass ich eine Probe dieses Extractes mit Bleioxyd und Wasser erhitzte, das so erhaltene Product mit Wasser auslaugte und die Lösung in bekannter Weise auf Glycerin prüfte. Ich bekam dabei nur eine äusserst schwache Glycerinreaction.

II. Körper aus den Samenschalen von *Phaseolus vulgaris*.

Das Ausgangsmaterial für meine Versuche bildete ein grösseres Quantum des wiederum in der Fabrik von Herrn Siegfried in Zofingen für mich dargestellten Aetherrohextracts aus den in der Ueberschrift genannten Samenschalen.

¹⁾ Jacobson, Inaug.-Dissert., Königsberg 1887; diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 32.

²⁾ Hesse, Ann. d. Chem., Bd. 229, S. 296.

Dieser Aetherextract bildete nach dem Abdestilliren des Aethers eine zähe gelbe Masse. Ich verarbeitete denselben genau in derselben Weise, wie die Extracte aus den Samenschalen der Lupinen und Erbsen, d. h. ich verseifte ihn mit alkoholischem Kali, dunstete die so erhaltene Lösung ein und schüttelte den Verdampfungsrückstand mit Wasser und Aether durch. Die von der wässerigen Schicht abgeheberte ätherische Lösung wurde der Destillation unterworfen; der Destillationsrückstand bildete eine ölige Masse, aus welcher sich nach dem Erkalten nur sehr langsam Krystalle ausschieden.

Die Untersuchung dieses Rückstandes liess leicht erkennen, dass hier ein Gemenge verschiedener Substanzen vorlag.

Zur Trennung derselben wurde folgender Weg eingeschlagen. Das Rohproduct habe ich mit Holzgeist behandelt, dabei ging ein beträchtlicher Theil desselben in Lösung; zurück blieb eine ölige Substanz, welche aber beim Erkalten allmählig fest wurde.

Die von letzterer abgegossene Lösung lieferte beim Erkalten eine reichliche, blättrig krystallinische Ausscheidung, welcher jedoch noch Oeltröpfchen beigemischt waren. Diese Substanz wurde abfiltrirt, zwischen Fliesspapier stark gepresst und sodann aus Weingeist wiederholt umkrystallisirt. Ich erhielt so ein in Blättchen krystallisirtes Product, welches bei 135° schmolz und nach seinen Eigenschaften für ein Cholesterin erklärt werden konnte.

Die zur weiteren Reinigung dieses Products angewendeten Mittel sollen weiter unten beschrieben werden; zunächst sei mitgetheilt, dass die bei Darstellung desselben resultirenden Mutterlaugen beim Verdunsten neben den blättrigen Krystallen kleine, zu knolligen Aggregaten vereinigte Täfelchen, welche sich im Habitus sehr stark von ersteren unterschieden, lieferten. Da dieselben sich aus der alkoholischen Lösung weit langsamer ausschieden, als die blättrigen Krystalle, so war es möglich, sie von letzteren durch fractionirte Krystallisation zu trennen.

So erhielt ich zwei Producte, welche zweifellos von einander verschieden waren und welchen ich die Namen «Paraphytosterin» und «Phasol» beilegen will.

Was die oben erwähnte ölige Substanz betrifft, welche bei Behandlung des Rohproducts mit Holzgeist zurückblieb, so liessen sich aus derselben durch Umkrystallisiren aus Weingeist noch Paraphytosterin und Phasol gewinnen. Es blieb stets noch eine in der Wärme ölige, beim Erkalten fest werdende Substanz, über deren Beschaffenheit ich nähere Angaben nicht machen kann.

a) Paraphytosterin.

Die völlige Reindarstellung des ersten blättrig krystallinischen Products suchte ich auf folgendem Wege zu erreichen: Ich krystallisirte dasselbe zunächst aus Alkohol um, bis es den Schmelzpunkt 135° C. zeigte, dann führte ich es in die Benzoylverbindung über, indem ich die Substanz mit gleichen Theilen Benzoësäureanhydrid im zugeschmolzenen Rohr auf $190-200^{\circ}$ C. erhitzte. Das so gewonnene Product wurde durch Behandeln mit Alkohol von überschüssigem Benzoësäureanhydrid und von der bei der Reaction gebildeten Benzoësäure befreit, dann aus Aether umkrystallisirt, wobei es sich als schwer löslich in diesem Lösungsmittel erwies. Dann zerlegte ich das Benzoat durch Kochen mit alkoholischem Kali. Den in bekannter Weise von den anderen Zersetzungsproducten wieder getrennten freien Alkohol liess ich aus Weingeist krystallisiren; ich erhielt ihn so in sehr schönen, glänzenden, grossblättrigen Krystallen, welche im Aussehen dem Gallenstein-Cholesterin sehr ähnlich waren. Die Krystalle schmolzen bei $149-150^{\circ}$ C.; die geschmolzene Masse erstarrte beim Erkalten krystallinisch. Eine Lösung einer geringen Substanzmenge in einigen Cubikcentimetern Chloroform nahm auf Zusatz von 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und 1 Tropfen concentrirter Schwefelsäure vorübergehend röthliche Färbung an; später wurde sie blau, dann grün; die Substanz giebt also die sogenannte Cholestolreaction in der gleichen Weise, wie es die meisten anderen Cholesterine thun.

Schüttelt man die chloroformische Lösung mit Schwefelsäure vom specif. Gewicht 1,76, so nimmt dieselbe bald eine

purpurrothe Färbung an; die Substanz gleicht also auch in dieser Hinsicht den anderen Cholesterinen.

Die Substanz ist optisch activ. Zur Feststellung des Drehungsvermögens diente eine chloroformische Lösung derselben, welche in 10 cbcm. 0,3450 gr. Substanz (in 100 cbcm. 3,4500 gr.) enthielt.

Diese Lösung drehte im Soleil-Ventzke'schen Apparate bei 16° C. im 200 mm.-Rohr 8,8° nach links; daraus berechnet sich

$$(\alpha)_D = -44,10^\circ.$$

Das Paraphytosterin scheidet sich aus alkoholischer Lösung mit Krystallwasser ab, wie es auch die anderen Cholesterine thun. In seinen Löslichkeitsverhältnissen gleicht es den anderen Cholesterinen; es ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Aether, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff und heissem Weingeist, schwer löslich in kaltem Weingeist.

Die Verbrennung der bei 100° C. getrockneten Krystalle mit Kupferoxyd in beiderseitig offenem Glasrohr gab folgende Resultate:

1. 0,1538 gr. Substanz gaben 0,4720 CO₂ und 0,1630 H₂O.
2. 0,1302 gr. gaben 0,4002 CO₂ und 0,1368 H₂O.

Diese Resultate entsprechen ziemlich gut der Formel, welche man dem Cholesterin gewöhnlich giebt, d. h. der Formel C₂₆H₄₄O, sie passen aber noch besser auf die Formeln C₂₄H₄₀O und C₂₅H₄₂O, wie folgende Zusammenstellung lehrt:

	Berechnet für			Gefunden:	
	C ₂₄ H ₄₀ O:	C ₂₅ H ₄₂ O:	C ₂₆ H ₄₄ O:	I.	II.
C	83,72	83,79	83,87	83,67	83,71%
H	11,62	11,72	11,83	11,76	11,67
O	4,66	4,48	4,30	—	—

Die Krystallwasserbestimmung hat folgendes Resultat geliefert:

0,6440 gr. lufttrockene Substanz wurde bei 100° getrocknet und gab ab 0,0322 H₂O.

	Berechnet für			Gefunden:
	C ₂₄ H ₄₀ O + H ₂ O:	C ₂₅ H ₄₂ O + H ₂ O:	C ₂₆ H ₄₄ O + H ₂ O:	
H ₂ O	4,97	4,78	4,61	5,00%

Ebenso wie bei dem Cholesterin kann auch hier die Elementaranalyse keine sichere Entscheidung über die Formel geben, da beispielsweise die Differenzen der von den Formeln $C_{26}H_{44}O$ und $C_{45}H_{82}O$ geforderten Werthe in die Fehlergrenze der Analyse fallen.

Die Benzoylverbindung des im Vorigen beschriebenen Paraphytosterins, deren Darstellung schon oben angegeben ist, krystallisirt aus Aether in dünnen, matten Prismen. Dieselben unterscheiden sich im Aussehen von allen mir bis jetzt zu Gesicht gekommenen Benzoylverbindungen anderer Cholesterine¹⁾.

Das Paraphytosterinbenzoat schmilzt bei 142–143° C. In Weingeist ist es sehr wenig löslich, in Aether leichter, aber immer noch ziemlich schwer. Auf Grund der im Vorigen gemachten Mittheilungen darf man das Paraphytosterin für ein Glied der Cholesteringruppe erklären. Es stimmt mit den Cholesterinen nicht nur in der Zusammensetzung überein, sondern es giebt auch sowohl die Cholestolreaction, als auch die charakteristische Färbung mit Chloroform und Schwefelsäure.

Es schien mir wünschenswerth, noch auf colorimetrischem Wege die Intensität zu bestimmen, in welcher das von mir gewonnene Product die ebengenannten Reactionen giebt. Als Vergleichsobject diente ein aus Lupinensamen dargestelltes Phytosterinpräparat. Bei Ausführung der Versuche verwerthete ich die von H. Burchard²⁾ und E. Schulze³⁾ gemachten Angaben. Ich löste 0,025 gr. des reinsten Paraphytosterins in Chloroform und füllte die Flüssigkeit auf 50 ccm. auf. Eine Lösung gleicher Concentration stellte ich aus Phytosterin her. Je 2 ccm. dieser Lösungen wurden mit je 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und je 2 Tropfen concentrirter Schwefelsäure versetzt. Die Paraphytosterinlösung gab bei dieser Behandlung etwas stärkere Grünfärbung, als die gleich con-

¹⁾ Die Benzoylverbindungen der anderen aus Pflanzensamen gewonnenen Cholesterine krystallisiren alle in kleinen Blättchen.

²⁾ H. Burchard, Beiträge zur Kenntniss der Cholesterine, Inaug.-Dissert., Rostock 1889.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, Heft 6.

centrirte Phytosterinlösung. Ferner schüttelte ich je 5 ccm. Schwefelsäure vom specif. Gewicht 1,75 in kleinen, mit Stöpsel versehenen Glaszylindern 5 Minuten lang durch, liess dann absetzen und beobachtete die Rothfärbung, welche die Chloroformschicht angenommen hatte. Es zeigte sich, dass auch bei dieser Reaction die Paraphytosterinlösung sich etwas stärker gefärbt hatte, als diejenige des Phytosterins; doch war der Farbenton nicht völlig der gleiche; die Phytosterinlösung zeigte reine Purpurfärbung, während die Lösung des Paraphytosterins etwas in's Bräunliche übergehende Rothfärbung zeigte.

b) Phasol.

Die Darstellung dieses Körpers und seine Trennung von Paraphytosterin habe ich oben schon beschrieben. Zur Reinigung krystallisirte ich ihn wiederholt aus Weingeist um. Einen anderen Weg zur Reinigung vermochte ich nicht aufzufinden. Die Ueberführung in die Benzoylverbindung, welche bei Lupeol, Phytosterin und Paraphytosterin so gute Dienste geleistet hat, war hier nicht von Nutzen, weil diese Verbindung sehr schlecht krystallisirte.

Das in der angegebenen Weise gereinigte Phasol zeigte folgende Eigenschaften: Es krystallisirte aus Weingeist in kleinen, zu Gruppen vereinigten Tafeln, welche kein Krystallwasser enthalten. Dieselben schmolzen bei 189—190°; sie lösen sich nicht in Wasser, ziemlich leicht in kaltem, leicht in heissem Weingeist; sie lösen sich auch in Aether, Chloroform und Benzol, in Chloroform sind sie aber schwerer löslich, als Cholesterin und Phytosterinkrystalle.

Die Krystalle gaben die Cholestolreaction und die Hessesche Reaction, aber weit schwächer als die Cholesterine.

Ich löste 0,025 gr. des reinsten Präparats in 50 ccm. Chloroform. Von dieser Lösung brachte ich 2 ccm. mit 10 Tropfen Essigsäureanhydrid und 2 Tropfen concentrirter Schwefelsäure zusammen. Die Flüssigkeit nahm nach Verlauf einer halben Stunde schwach grüne Färbung an; die Färbung war sehr viel schwächer, als diejenige einer gleich concentrirten

Phytosterinlösung. Ferner schüttelte ich 5 cbcm. jener Lösung 5 Minuten lang mit dem gleichen Volumen Schwefelsäure vom specif. Gewicht 1,76 durch; die Lösung nahm eine sehr schwache Rothfärbung an.

Das Phasol ist optisch activ und zwar rechtsdrehend. Eine Lösung, welche in 10 cbcm. 0,3671 gr. Substanz oder in 100 cbcm. 3,6710 gr. enthielt, drehte im Soleil-Ventzke'schen Apparat im 200 mm.-Rohr bei 16° C. 6,5° nach rechts; daraus berechnet sich

$$(a)_D = +306^\circ.$$

Die Elementaranalyse lieferte folgende Resultate:

1. 0,1576 gr. bei 95° getrocknete Substanz gaben 0,4728 gr. CO₂ und 0,1586 gr. H₂O.
2. 0,1672 gr. gaben 0,5046 gr. CO₂ und 0,1626 gr. H₂O.

Diese Zahlen entsprechen ziemlich gut der Formel C₁₅H₂₄O, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

	Berechnet für C ₁₅ H ₂₄ O:	Gefunden:	
		I.	II.
C	81,81	81,84	82,22%
H	10,90	11,18	10,79 »
O	7,29	—	—

Das Phasol scheint demnach zu den von Hesse beschriebenen cholesterinähnlichen Körpern zu gehören, welche der Genannte als Quebrachol¹⁾, Cupreol²⁾ und α- und β-Lactucerol³⁾ bezeichnet hat, Körper, deren Formeln zwei Atome Wasserstoff mehr einschliessen, als die Formeln der entsprechenden Glieder der Cholesterinreihe.

Ob aber die von mir untersuchten Phasolpräparate völlig rein waren, ist eine Frage, welche nicht mit völliger Sicherheit bejaht werden kann. Wie aus den von mir gemachten Mittheilungen sich ergibt, vermochte ich zur Trennung des Phasols vom Paraphytosterin keinen anderen Weg aufzufinden, als fractionirte Krystallisation. Es ist aber fraglich, ob auf

¹⁾ Liebig, Ann., Bd. 211, S. 272.

²⁾ Ibidem, Bd. 228, S. 291.

³⁾ Ibidem, Bd. 234, S. 243.

diesem Wege das Phasol völlig frei von Paraphytosterin erhalten wurde. Es ist demnach auch denkbar, dass die Phasolpräparate nur deshalb schwache Cholestolreaction, sowie schwache Hesse'sche Reaction gaben, weil sie noch eine geringe Paraphytosterinmenge einschlossen, und dass das reine Phasol diese Reaction gar nicht giebt. Ist dies der Fall, so wird auch wohl die Elementarzusammensetzung des reinen Phasols, sowie das Drehungsvermögen desselben von den von mir erhaltenen Zahlen etwas abweichen. Dass aber das Phasol ein vom Paraphytosterin völlig verschiedener Körper ist, geht schon daraus hervor, dass sein Drehungsvermögen demjenigen des Paraphytosterins entgegengesetzt ist.

Viel weniger wahrscheinlich ist es, dass den von mir dargestellten Paraphytosterinpräparaten noch Phasol beige-mengt war. Denn das letztere ist leichter löslich in Weingeist als das Paraphytosterin und kann demnach kaum Schwierigkeiten haben, diesen Körper durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Weingeist vom Phasol zu befreien.

Ausser den Samenschalen der oben genannten Leguminosen habe ich auch noch diejenigen von *Lens esculenta* untersucht. Als ich den Aetherextract aus diesen Schalen nach dem oben angegebenen Verfahren verarbeitete, erhielt ich eine Substanz, welche die Cholesterinreactionen gab. Dieselbe schmolz nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus Weingeist bei 120° C. Ob dieselbe ein einheitlicher Körper war oder nicht, habe ich nicht näher festgestellt.