

## Beiträge zur Kenntniss des Sitosterins.

Von  
E. Ritter.

(Aus dem agriculturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 19. December 1901.)

In der Einleitung zu der vorhergehenden Mittheilung sind schon die Gründe mitgetheilt, die mich veranlasst haben, das schon von Burián<sup>1)</sup> untersuchte Phytosterin der Weizenkeime oder Sitosterin noch einmal zu untersuchen und noch einige neue Ester desselben darzustellen. Ueber die Beschaffung des dazu erforderlichen Materials ist Folgendes anzugeben:

Die sämmtlichen bei meinen Versuchen erhaltenen Sitosterinproben wurden durch Umkrystallisiren aus 80 bis 90%igem Alkohol zur vollständigen Reinheit gebracht. Sodann wurde noch eine grössere Quantität Fett in einer Operation nach der zuletzt genannten Methode verarbeitet. In diesem Falle wurde die Aetherextraction der Seife in einem grossen, inwendig verzinneten, kupfernen Extractionsapparat vorgenommen. Durch Vereinigung dieser sämmtlichen Produkte wurde nun eine grosse Menge ganz reinen Sitosterins gewonnen, das dann zu weiteren Untersuchungen diente. Die vollständige Reinigung des Sitosterins durch Umkrystallisiren war etwas schwieriger, als dies bei dem Gallensteincholesterin gewöhnlich der Fall ist. Es musste etwa 6 Mal aus dem Alkohol umkrystallisirt werden, bis der Schmelzpunkt constant blieb. Der ganz reine Körper schmolz bei 136,5°. <sup>2)</sup> Der Körper bildete prächtige, ganz farblose, stark perlmutter- bis fettglänzende dünne Blättchen, die eine Molekel Krystallwasser enthalten. Aus Aether umkrystallisirt, erhält man den Körper in sehr schön ausgebildeten feinen Nadeln, die wasserfrei sind.

1) Monatshefte f. Chemie, Bd. 18, S. 551.

2) Burián gibt einen Schmelzpunkt von 137,5° an.

### Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens.

Dasselbe wurde zuerst bestimmt in ätherischer Lösung. Wegen der leichten Verdunstbarkeit des Aethers ist aber dieses Verfahren nicht besonders zu empfehlen. Später wurde Chloroform als Lösungsmittel angewendet. Ich bediente mich eines Soleil-Ventzke'schen Apparates. Für die Bestimmungen wurde eine Lösung verwendet, die in 20 ccm. Flüssigkeit  $\frac{1}{2}$  g Phytosterin enthielt.

Um die Werthe für Natriumlicht (D-Linie) zu erhalten, musste das so gefundene Resultat mit dem Factor 0,346 multiplicirt werden.

Es wurden erhalten als mittlere Werthe:

für ätherische Lösung	$[\alpha]_D = -26,40^\circ$
Chloroformlösung	$[\alpha]_D = -33,91^\circ$

Die Bestimmungen wurden bei einer Temperatur von ungefähr  $20^\circ$  vorgenommen.

### Elementaranalyse.

Bei den ersten Analysen wurde die zu verbrennende Substanz mit gepulvertem Bleichromat gemischt, um einer möglichst vollständigen Verbrennung sicher zu sein. Später wurde das Bleichromat durch gepulvertes Kupferoxyd ersetzt und dabei dieselben Resultate erhalten. Da man mit Kupferoxyd bequemer arbeiten kann, so wurde dasselbe für alle weiteren Verbrennungen beibehalten.

Zuvor gebe ich die Werthe an, die den hauptsächlich in Betracht kommenden Cholesterinformeln entsprechen. Für das krystallwasserhaltige thierische Cholesterin kommen bekanntlich in erster Linie die Formeln  $C_{26}H_{43}OH + H_2O$  und  $C_{27}H_{45}OH + H_2O$  in Betracht.<sup>1)</sup> Mauthner und Suida<sup>2)</sup> geben jedoch der wasserstoffärmeren Formel  $C_{27}H_{43}OH + H_2O$  den Vorzug. Diese Formel will R. Burián auch dem Sitosterin geben.

<sup>1)</sup> Vergl. insbesondere die Abhandlung von K. Obermüller, Beiträge zur Kenntniss des Cholesterins (Zeitschr. f. physiol. Chem. 1891, 37).

<sup>2)</sup> Chemiker-Ztg. 1894, 839.

Die diesen Formeln entsprechenden Procentzahlen habe ich im Folgenden zusammengestellt.

1. $C_{26}H_{43}OH + H_2O$	2. $C_{27}H_{45}OH + H_2O$	3. $C_{27}H_{43}OH + H_2O$
C = 80,00%	C = 80,20%	C = 80,60%
H = 11,79 %	H = 11,88 %	H = 11,44 %
O = 8,21 %	O = 7,92 %	O = 7,96 %

Die bei der Analyse meines Phytosterins erhaltenen Zahlen stimmen besser auf die Formel 1 und 2 als auf die wasserstoffärmere 3. Der Kohlenstoff entspricht am besten für 2, der Wasserstoff für 1. Auch die weiter unten mitgetheilten Resultate, die ich bei der Analyse der Ester meines Phytosterins erhielt, stimmen besser auf die beiden ersten als auf die dritte Formel.

Die Resultate meiner zwei Analysen sind folgende:

1. Substanz = 0,2013 g	
CO <sub>2</sub> = 0,5903 »	entspr. C = 79,98%
H <sub>2</sub> O = 0,2176 »	H = 12,01 %
2. Substanz = 0,2058 »	
CO <sub>2</sub> = 0,6040 »	entspr. C = 80,09%
H <sub>2</sub> O = 0,2223 »	H = 12,00 %

#### Verarbeitung der Mutterlaugen.

Die beim Reinigen der Sitosterinproben durch Umkrystallisiren aus Alkohol erhaltenen Mutterlaugen enthalten natürlich neben den anwesenden fremden Körpern als Hauptmenge noch Sitosterin. Um nun dieses zu gewinnen, wurden sämtliche Mutterlaugen vereinigt und gesucht durch Umkrystallisiren aus Alkohol daraus noch reines Sitosterin zu gewinnen. Die zuerst auskrystallisirten Antheile wurden von der Mutterlauge getrennt und durch separate weitere Umkrystallisirungen aus Alkohol gereinigt. Hierbei wurde ein Produkt erhalten, das vollständig farblos war. Daraus hätte man schliessen können, dass hier das gewöhnliche reine Sitosterin vorliege. Sobald nämlich bei den einzelnen Versuchen früher durch das Umkrystallisiren die färbenden Beimengungen entfernt worden waren, blieben Schmelzpunkt, Krystallform etc. unverändert. Man hatte einen reinen einheitlichen Körper vor sich. In dem hier erwähnten Falle schmolz dieses farb-

lose Produkt aber schon bei 132°. Durch nochmaliges Umkrystallisiren wurde der Schmelzpunkt kaum merklich erhöht. Die Krystallform war gegenüber dem früher gewonnenen reinen Sitosterin merklich verändert. Man hatte hier nicht die gewöhnlichen Blättchen von früher vor sich, sondern es waren Krystallblättchen, welche in einer Richtung stark verlängert und nach der dazu senkrechten ganz schmal waren. Solche an die Nadelform erinnernde Gebilde waren meist büschel- oder fächerförmig zu Gruppen vereinigt. Mit blossen Auge konnte man erkennen, dass die schmalen Seiten theils rechtwinklig, theils schräg abgegrenzt waren: andere liefen unregelmässig in Spitzen aus. Der Glanz dieser Krystallgebilde war ebenso stark wie bei den früher beschriebenen gewöhnlichen Blättchen. Nach weiterem fünfmaligen Umkrystallisiren aus Alkohol konnte schliesslich der Schmelzpunkt auf die früher gefundene Zahl von 136,5° gebracht werden. Dieser Werth blieb nun constant. Auch jetzt konnte man dieselbe veränderte Krystallform beobachten. Nur waren die einzelnen Gebilde noch etwas schmaler geworden. Als Characteristicum ist noch zu erwähnen, dass diese einzelnen Krystallindividuen sich meist so zusammengefügt haben, dass Längsseite an Längsseite stiess und so blattartige, zum Theil gebogene Gebilde entstanden. Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens in Chloroformlösung dieser Krystallvarietät ergab den Werth  $[\alpha]_D = - 33,87^\circ$ . Specifisches Drehungsvermögen und auch der Schmelzpunkt sind also die gleichen wie früher. Demnach lag der Unterschied lediglich in der verschiedenen Krystallform. Die vereinigten Mutterlaugen, aus denen schliesslich keine Krystalle mehr erhalten werden konnten, wurden durch Eindampfen vom Alkohol befreit. Es hinterblieb eine amorphe braungelbe Masse, die eine Consistenz von dickem Honig hatte und sehr klebrig war. Die ganze Masse wurde nun in wenig Alkohol gelöst und dann mit alkoholischem Natron zur Trockene verdampft, dann in Wasser gelöst und nun nach den früheren Angaben mit Salz gemischt und mit Aether extrahirt. Auf diese Weise mussten eventuell noch vorhandene Reste von Fetten in Seifen verwandelt und beim Extrahiren mit Aether

entfernt werden. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser geschüttelt, um so vielleicht noch anwesende Seife und Glycerin zu entfernen. Der Aether wurde dann vollständig abgedunstet. Es resultirte wieder diese weiche, klebrige Masse, mit dem gleichen Aussehen wie vorher. Es konnte ein eigenthümlicher, etwas brenzlicher, nicht angenehmer Geruch wahrgenommen werden. Der Körper wurde nun in Methylalkohol gelöst und auskrystallisiren gelassen (Phytosterin ist in Methylalkohol schwerer löslich als in gewöhnlichem). Damit wollte man noch vorhandenes Sitosterin soweit als möglich entfernen. Es hat sich gezeigt, dass, wenn man eine nicht zu grosse Menge kochenden Methylalkohol verwendet, ein Theil der Substanz klar in Lösung geht, ein anderer Theil als braunes, dünnflüssiges, schweres Oel am Boden des Gefässes sich absetzt. Um eine Trennung herbeizuführen, wurde nun die heisse, klare Lösung in ein anderes Gefäss abgegossen und erkalten gelassen. In der Schale mit dieser Lösung waren am nächsten Morgen der Boden und die Wandungen mit gelblichen Krystallen dicht besetzt. Zwischen den Krystallen war noch eine kleine Menge von dem genannten braunen Oel zurückgeblieben. In der anderen Schale, welche das in Methylalkohol schwer lösliche Oel enthielt, hatte sich dieses letztere über Nacht mit kleinen Krystallen ganz durchsetzt. Mein Bestreben war nun, aus dem ölartigen Körper möglichst viel krystallisirbare Substanz zu gewinnen. Deshalb wurde fortgesetzt mit Methylalkohol gekocht, in der Kälte auskrystallisiren gelassen, die Krystalle getrennt und mit den schon gewonnenen vereinigt. Die schliesslich zurückbleibende, ziemlich geringe Quantität einer dunkelbraunen, klebrig-harzigen Substanz löste sich in Methylalkohol überhaupt nicht mehr. Nach dem vollständigen Abdunsten der Lösungsmittel und Erkaltenlassen hinterblieb eine harzartig aussehende, braune, starkglänzende, nicht mehr klebrige, ganz starre, amorphe Masse, mit einem schwachen, schon bei früheren Produkten wahrgenommenen, charakteristischen Geruch. Dieser amorphe Körper wurde nicht mehr weiter untersucht. Die durch Ausziehen mit Methylalkohol erhaltenen Krystalle wurden vereinigt, dann zunächst aus

Methyl- und später aus Aethylalkohol umkrystallisirt. Es resultirte ein Körper, den ich allerdings vorderhand nicht rein darstellte, dessen Eigenschaften aber schon darauf hindeuteten, dass er zum grossen Theil aus dem von Burián in seiner erwähnten Arbeit als Para-Sitosterin beschriebenen Körper bestehen werde.

#### **Ester des Sitosterins.**

R. Burián hat den Essigsäure-, Propionsäure- und den Bezoensäureester dargestellt. Ich habe gleichfalls den Benzoesäureester dargestellt, ausserdem noch den Palmitinsäure-, Oelsäure-, Stearinsäure- und Zimmtsäureester. Die Eigenschaften dieser Verbindungen theile ich im Folgenden mit.

#### **Benzoësäureester.**

Zur Darstellung dieses Esters wurden 5 g Sitosterin und 5 g Benzoylchlorid in einem mit Glasbirne lose bedeckten Erlenmeyer'schen Kölbchen während einiger Minuten im Oelbad auf ca. 160° erwärmt. Es entstand eine dunkle, grünlich-braune Flüssigkeit, die beim Erkalten krystallinisch erstarrte. Nun behandelte ich die entstandene Schmelze mit Aether, von welchem es zur vollständigen Lösung einer ziemlich grossen Menge bedurfte. Zur ätherischen Lösung gab ich noch etwas absoluten Alkohol und liess dann langsam verdunsten. Es entstanden zum grössten Theil rechtwinklige Tafeln, daneben schieden sich auch nadelförmige Krystalle aus, welche letztere wahrscheinlich von Beimengungen herrührten. Man konnte einen beim zunehmenden Verdunsten immer stärker auftretenden sehr angenehmen Geruch wahrnehmen. Dieser rührte von Aethylester der Benzoensäure her, der sich aus dem überschüssigen Benzoylchlorid und dem hinzugefügten Aethylalkohol gebildet hatte. Benzoensäure und seine niederen Ester sind bekanntlich in Alkohol sehr leicht löslich; dagegen löst sich das Sitosterylbenzoat in kaltem Alkohol sehr schwer. Deshalb wurde nun das Krystallgemisch auf dem Wasserbad mit absolutem Alkohol gekocht. Dabei gingen die Benzoensäure und ihre niederen Ester in Lösung. Der Sitosterylester, der

auch in heissem Alkohol verhältnissmässig sehr schwer löslich ist, blieb zum grössten Theil ungelöst, trotzdem ziemlich viel absoluter Alkohol zugefügt worden ist. Nach dem Erkalten wurde die ausgeschiedene Krystallmasse, die nun vom grössten Theil der Benzoesäure, Benzoesäureäthylat etc. befreit worden war, abfiltrirt und dann in einem hohen Becherglas in Aether wieder gelöst. Es bedurfte zur vollständigen Lösung einer recht grossen Menge des letzteren. Um das Verdunsten des Aethers nun langsam vor sich gehen zu lassen, bedeckte ich das Becherglas lose mit einem Papierdeckel. Nach und nach schieden sich ziemlich grosse, farblose Krystallblättchen aus, deren Schmelzpunkt  $136^{\circ}$  war. Nach einige Male wiederholtem Umkrystallisiren blieb schliesslich der Schmelzpunkt constant bei  $145,5^{\circ}$ .<sup>1)</sup> Die sehr schön ausgebildeten, grossen, ganz farblosen Blättchen besitzen rechtwinklig zueinander stehende Kanten und einen intensiven Glanz. Wenn der geschmolzene Körper erstarrt, so ist ein schönes Farbenspiel von namentlich hellgrünlichen, bläulichen und schwach röthlichen Farben zu bemerken.<sup>2)</sup>

Die Elementaranalyse ergab folgende Resultate:

Berechnet: für $C_{27}H_{45}OOC C_6H_5$	für $C_{26}H_{43}OOC C_6H_5$
C = 83,27 %	C = 83,20 %
H = 10,20 %	H = 10,08 %
Verwendete Substanz = 0,2028 g	
CO <sub>2</sub> = 0,6202 %	entspr. C = 83,41 %
H <sub>2</sub> O = 0,1898 %	H = 10,40 %

#### Zimmtsäureester.

4,5 g Sitosterin wurden mit 17 g Cinnamylchlorid ( $C_6H_5CH:CHCOCl$ ) während  $2\frac{1}{2}$  Stunden in einem mit Glasbirne lose verschlossenen Erlenmeyer-Kölbchen im Oelbad auf ca.  $180^{\circ}$  erhitzt. Da überschüssiges Cinnamylchlorid nach und nach in prächtigen Krystallen durch Sublimation an den Wänden des Kölbchens sich festsetzte, so wurde es wiederholt mit Hilfe eines Glasstabes in die am Boden des

1) Burián hat  $145-145,5^{\circ}$  gefunden.

2) Dieses Farbenspiel wurde auch von Burián erwähnt.

Gefässes sich befindliche Flüssigkeit zurückgebracht. Nach dem Erkalten blieb eine krystallinisch erstarrte braungraue Schmelze, die nun mit Hilfe von Aether in ein Krystallisationsgefäss gebracht wurde. Der Aether wurde dann wieder abgedunstet und die zurückgebliebene Masse aus absolutem Alkohol umkrystallisirt. Sie war verhältnissmässig leicht löslich in Alkohol. Nach dreimaligem Umkrystallisiren aber ist die Löslichkeit selbst in heissem absoluten Alkohol eine äusserst geringe geworden. Das lässt sich daraus erklären, dass die vorher in grösserer Menge anwesenden fremden Körper (überschüssiges Cinnamylchlorid, Aethylester der Zimmtsäure etc.) die Löslichkeit bedeutend erhöht haben. Auch nach viermaligem Umkrystallisiren aus heissem absoluten Alkohol zeigte sich der Ester noch ziemlich braun gefärbt. Daher wurde jetzt die alkoholische Lösung unter Zusatz von etwas Thierkohle gekocht und dann heiss filtrirt. Aus dem Filtrat schied sich nun beim allmählichen Erkalten der Körper in prächtigen farblosen, wohlausgebildeten Krystallen (meist an die Nadelform erinnernde langgestreckte Blättchen) aus, die einen intensiven Perlmutterglanz besaßen. Er schmolz bei  $158^{\circ}$ . Die erstarrende Schmelze zeigte wunderschöne Fluorescenz, wobei namentlich die grüne Farbe vorherrschte. Um die letzten Reste der äusserst fein vertheilten Thierkohle zu entfernen, musste das Lösen und Heissfiltriren durch dichtes Papier wiederholt werden.<sup>1)</sup> Die Krystallformen und der Schmelzpunkt sind unverändert geblieben: nur hatte sich der wunderschöne Perlmutterglanz eher noch etwas erhöht. Die Krystalle waren spröde und liessen sich sehr leicht brechen.

#### Elementaranalyse.

Berechnet: für $C_{26}H_{45}OOC_2H_2C_6H_5$ :	für $C_{26}H_{43}OOC_2H_2C_6H_5$
C = 83,72 %	C = 83,67 %
H = 10,08 %	H = 9,96 %
Verwendete Substanz = 0,2005 g	
CO <sub>2</sub> = 0,6147 %	entspricht C = 83,61 %
H <sub>2</sub> O = 0,1859 %	H = 10,30 %

<sup>1)</sup> Wegen der vorzunehmenden Elementaranalyse mussten unbedingt die letzten Spuren der Kohle entfernt werden.

Nachträglich sei noch bemerkt, dass Bondzynski und Humnicki<sup>1)</sup> zuerst Zimmtsäurechlorid zur Esterbildung mit dem von ihnen entdeckten Koprosterin und dem gewöhnlichen thierischen Cholesterin verwendet haben.

#### Palmitinsäureester.

Bekanntlich besteht das Lanolin oder Wollfett, das in der rohen Schafwolle vorkommt, zu einem grossen Theil aus Estern des Cholesterins und des von E. Schulze darin entdeckten Isocholesterins mit höheren Fettsäuren. Hürthle<sup>2)</sup> hat Verbindungen des thierischen Cholesterins mit Palmitin-, Stearin- und Oelsäure aus Blutserum isolirt und dann selbst auch künstlich solche Ester dargestellt. Da es nun im Bereich der Möglichkeit liegt, dass die Phytosterine hin und wieder in den Pflanzen nicht frei, sondern in Verbindung mit Fettsäuren als Ester sich vorfinden, so war es von Interesse, die künstliche Herstellung der Sitosterinester mit einigen höheren Fettsäuren zu versuchen. Ich wählte dazu Palmitin-, Stearin- und Oelsäure. Es gelang denn auch, diese Körper in reinem Zustande darzustellen. Im Folgenden beschreibe ich zuerst Darstellung und Eigenschaften des Palmitinsäureesters.

Zur Darstellung von Sitosterylpalmitat wurde folgendermassen verfahren. In 2 Einschmelzröhren wurden je 2 g Sitosterin und je 1,8 g Palmitinsäure gebracht. Nachdem dann noch zum Wasserentziehen in die eine Röhre 7 g trockenes Zinkchlorid und 15 Tropfen concentrirte Salzsäure gegeben worden waren, schmolz ich beide Röhren zu und mischte dann gehörig durch. Der Inhalt der Röhre, welche kein Zinkchlorid enthielt, blieb rein weiss; derjenige der anderen hingegen färbte sich bald bräunlichgelb. Die beiden Röhren wurden nun während 45 Stunden anhaltend einer Temperatur von 145—150° ausgesetzt. Nach Ablauf dieser Erhitzungsdauer sah man in der Röhre ohne ZnCl<sub>2</sub> und HCl (nennen wir sie Röhre I) eine hellbraungelbe Schmelze und in der

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXII, S. 396.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 331.

anderen Röhre (Röhre II) ein zum allergrössten Theil schwarz gefärbtes Produkt. Die beiden Röhren wurden nun geöffnet und ihr Inhalt mittels Alkohol und Aether in Bechergläser übergeführt und eingedunstet. Bei I hinterblieb eine scheinbar amorphe, gelb gefärbte, feste Masse und bei II eine ölartige, schwarzbraune Flüssigkeit mit eigenthümlichem, angenehmem Geruch. Ich versuchte nun diese Substanzen in heissem absoluten Alkohol zu lösen. II löste sich spielend leicht. Aus der Lösung konnten aber auch nach längerem Stehen keine Krystalle erhalten werden. Es schied sich immer nur eine zähe, amorphe Masse aus. Hier schien das  $ZnCl_2$  mit der  $HCl$  bei der langen Einwirkungsdauer und der hohen Temperatur viel zu intensiv reagirt zu haben, so dass man auf die Anwesenheit einer irgendwie in Betracht kommenden Menge eines Sitosterinesters nicht hoffen konnte. Das durfte man schon aus der leichten Löslichkeit des Produktes selbst in kaltem absoluten Alkohol schliessen. Denn die Ester des thierischen Cholesterins mit höheren Fettsäuren, wie wir sie im Wollfett finden, sind selbst in siedendem absoluten Alkohol sehr schwer löslich und deshalb durfte man schliessen, dass auch die entsprechenden Ester des pflanzlichen Phytosterins durch Schwerlöslichkeit in Alkohol ausgezeichnet sein würden. Auf Grund dieses Befundes wurde nun das Reactionsprodukt II nicht weiter verarbeitet, sondern nur der Körper I, dessen Darstellungsbedingungen sichtlich die besser gewählten waren. Ich kochte nun zuerst mit etwas Acetessigester, liess erkalten und filtrirte. So glaubte ich eventuell noch vorhandenes, unverändertes Sitosterin vom Ester trennen zu können; denn Acetessigester ist dadurch ausgezeichnet, dass er Cholesterin viel leichter löst als Lanolin, und das gleiche Verhalten konnte auch gegenüber den entsprechenden Phytosterinverbindungen angenommen werden. Das Filtrat wurde dann weggegossen und der auf einem Filter gesammelte Rückstand aus heissem absoluten Alkohol umkrystallisirt. Die Lösung ging sehr schwierig vor sich und daraus konnte man schliessen, dass wir in diesem Produkt wahrscheinlich einen Ester vor uns hatten. Beim Erkalten schied sich ein weisser Körper aus,

dessen Schmelzpunkt zu  $89,5^{\circ}$  gefunden wurde. Nachdem das Umkrystallisiren noch etwa dreimal wiederholt worden war, blieb der Schmelzpunkt constant bei  $90^{\circ}$ . Wir hatten also einen einheitlichen, reinen Körper vor uns. Aus dem heissen Alkohol hat er sich in prächtigen, rein weissen, leichten Flocken ausgeschieden, die bald das ganze Gefäss anfüllten. Die Krystallformen konnte man mit unbewaffnetem Auge nicht genau unterscheiden. Es waren blättchen- bis nadelförmige Gebilde. Der auf Tonplättchen getrocknete Körper zeigte einen prachtvollen, intensiven Seidenglanz. Die Krystallgebilde zeichneten sich aus durch hohe Biagsamkeit und eine gewisse Weichheit, ohne jede Spur von Elasticität.

Das nun hier beschriebene Verfahren zur Darstellung von Sitosterylpalmitat, das zum Ziele führte, ist etwas umständlich und dauert ziemlich lange. Deshalb suchte ich noch in der nachstehend beschriebenen Weise leichter zum Ziele zu kommen.

2 g Sitosterin mit 10 g Palmitinsäure erhitzte ich in einem mit Glasbirne lose bedeckten Erlenmeyer-Kölbchen während 3 Stunden im Oelbad bei ca.  $200^{\circ}$ . Es entstand eine braune Schmelze. Sie wurde in heissem absoluten Alkohol gelöst; dann liess ich krystallisiren und goss die Mutterlauge, welche zum grössten Theil unveränderte Palmitinsäure enthalten musste, weg. Den Filtrerrückstand löste ich ein zweites Mal in siedendem absoluten Alkohol. Es schied sich beim Erkalten eine helle, graugelbliche, flockige Masse aus, die in der Flüssigkeit suspendirt war. Der Schmelzpunkt betrug  $88^{\circ}$ . Nachdem noch zweimal in gleicher Weise umkrystallisirt worden war, hatte sich der Schmelzpunkt auf  $89,5^{\circ}$  erhöht. Der Körper war nicht rein weiss, sondern hatte einen Stich ins Bräunliche. Der charakteristische Seidenglanz, der sich bei obigem reinen Produkt I zeigte, konnte hier auch, aber nur in bedeutend geringerem Grade, wahrgenommen werden. Mit blossem Auge konnte man bestimmte Krystallformen nicht wahrnehmen. Um die bräunliche Färbung wegzubringen, wurde nun mit Thierkohle behandelt. Nach weiterem zweimaligen Umkrystallisiren blieb dann der Schmelzpunkt constant bei  $90^{\circ}$ . Bei dem nun rein weiss gewordenen Ester war der intensive

Seidenglanz ebenso wahrzunehmen, wie in dem früheren Produkt. Die Ausbeute, die sich hier ergab, war ungefähr gleich gross wie beim zuerst beschriebenen Verfahren.

### Elementaranalyse.

Berechnet für $C_{27}H_{45}O_2.CC_{15}H_{31}$ :	für $C_{26}H_{43}O_2.CC_{15}H_{31}$
C = 82,69 %	C = 82,62 %
H = 12,18 %	H = 12,13 %
Verw. Subst. = 0,2041 g	
CO <sub>2</sub> = 0,6088 %	entspr. C = 82,61 %
H <sub>2</sub> O = 0,2241 %	H = 12,20 %

### Stearinsäureester.

3 g Sitosterin wurden mit 15 g Stearinsäure im Erlenmeyer-Kölbchen (mit Glasbirne bedeckt) während 3 Stunden im Oelbad auf 200° erhitzt. Beim Erkalten erstarrte die braune Schmelze. Sie wurde in heissem absoluten Alkohol gelöst. Es schied sich daraus beim Abkühlen eine helle, etwas bräunlichgelb gefärbte, pulverige Masse aus. Sie wurde abfiltrirt und das Filtrat, welches zum grössten Teil aus einer Lösung von Stearinsäure bestehen musste, weggegossen. Nun wurde das Umkrystallisiren in gleicher Weise wiederholt und eine Entfärbung mittels Thierkohle vorgenommen. So wurde der Körper in rein weissen Flocken erhalten, die aus feinen Nadeln zusammengesetzt waren. Beiläufig sei hier bemerkt, dass dieser Stearinsäureester sich wieder auszeichnet durch ausserordentliche Schwerlöslichkeit, sogar in siedendem Alkohol. Er ist am schwersten löslich von allen von mir dargestellten Fettsäureestern: dann folgt Palmitat als etwas leichter löslich und schliesslich das noch zu beschreibende Oleat. Der Schmelzpunkt wurde jetzt bei ca. 105° gefunden. Er war ganz unscharf, indem der Körper schon unterhalb 90° zusammensinterte. Nach einem neuerdings vorgenommenen Umkrystallisiren trat wieder ein Zusammensintern unterhalb 90° ein; die Schmelze wurde aber erst bei etwa 115° ganz klar. Dieses auffallende Verhalten konnte zuerst nicht erklärt werden. Als eventuell noch vorhandene Verunreinigung kam hauptsächlich unverändertes Sitosterin in Betracht. Denn die Stearinsäure,

die anfänglich im Ueberschuss zugegen war, löst sich ganz leicht in kaltem Alkohol und ebenfalls ganz leicht in Aether. Aus ersterem Grunde konnte nach dem oft wiederholten Umkrystallisiren kaum mehr Stearinsäure vorhanden sein und Sitosterin, dessen Anwesenheit noch deshalb denkbar (wenn auch nicht wahrscheinlich) war, weil es sich in kaltem Alkohol recht schwer löst, ist bekanntlich in Aether sehr leicht löslich. In Anbetracht dieser Verhältnisse nahm ich deshalb für eine weitere Krystallisation ein Gemisch von Alkohol und wenig Aether. Aber auch nach dieser Operation zeigte der Ester wieder die merkwürdige Eigenschaft, dass er bei ca.  $88^{\circ}$  zu einer Flüssigkeit zusammensinterte, die aber noch ganz trüb war und sich erst bei etwa  $115^{\circ}$  ganz klärte. Jetzt schien es doch wahrscheinlicher, dass der Grund dieser Erscheinung nicht in einer Verunreinigung des Körpers lag, sondern vielmehr eine Eigenthümlichkeit des reinen Esters war. Nachdem das Umkrystallisiren aus heissem absoluten Alkohol noch 4 Mal wiederholt worden war, blieben die Verhältnisse constant und ganz scharf. Der Körper schmolz nämlich nun sehr deutlich und plötzlich eintretend bei  $89-90^{\circ}$  zu einer ganz milchigtrüben Flüssigkeit. Bei weiterem Steigern der Temperatur wird diese Schmelze klarer, bis sie endlich bei  $118-119^{\circ}$  ganz klar und wasserhell ist. Dass wir nun den reinen Stearinsäureester vor uns hatten, beweisen die am Schluss angeführten Resultate der Verbrennungen. Der Körper, der aus äusserst feinen, nadeligen Gebilden besteht, ist rein weiss, beim Druck nachgebend, etwas weich und ganz unelastisch. Es ist ein schwacher Fettglanz zu constatiren, der ganz an den Glanz des Palmitinsäureesters erinnert. Er ist hier in viel geringerem Grad vorhanden. Als sehr merkwürdige Erscheinung ist noch folgende zu erwähnen. Die Schmelzpunktbestimmung wurde in einem Capillarröhrchen ausgeführt. Nimmt man nun den geschmolzenen Ester in dem Röhrchen aus dem Oelbad heraus, lässt erstarren (es entsteht eine ganz weisse Masse) und bestimmt mit gleicher Substanz im gleichen Röhrchen, ohne irgend etwas verändert zu haben, den Schmelzpunkt zum zweiten Mal, so zeigt sich nun, dass der Körper ganz scharf bei  $89,5^{\circ}$

zu einer ganz klaren Flüssigkeit schmilzt und beim weiteren Erwärmen keine Veränderung mehr zeigt.

Die Ausbeute an diesem Sitosterylstearat war im Vergleich zu denjenigen bei dem Oleat und Palmitat sehr gross.

### Elementaranalyse.

Berechnet für $C_{27}H_{45}O_2CC_{17}H_{35}$ :	für $C_{26}H_{43}O_2CC_{17}H_{35}$
C = 82,82 %	C = 82,75 %
H = 12,27 %	H = 12,22 %
Verw. Subst. = 0,2021 g	
CO <sub>2</sub> = 0,6142 %	entspr. C = 82,87 %
H <sub>2</sub> O = 0,2255 %	H = 12,40 %

Die höchst merkwürdige Erscheinung eines doppelten Schmelzpunktes, wie ich ihn nun beim Stearinsäureester des Sitosterins beobachtet habe, ist auch schon bei anderen Körpern wahrgenommen worden.

K. Obermüller<sup>1)</sup> hat beim Propionsäureester des thierischen Cholesterins beobachtet, dass dasselbe allerdings nur einen Schmelzpunkt hat. Beim Abkühlen der Schmelze treten aber neben den Farbenercheinungen zuerst ein Erstarren, dann wieder Beweglichwerden und noch einmal Erstarren zu anderen Krystallformen ein. Für Cholesterinbenzoat hat Obermüller einen doppelten Schmelzpunkt gefunden.

O. Lehmann (*Ueber fließende Krystalle*<sup>2)</sup>) fand, dass der Benzoesäureester des thierischen Cholesterins bei 145° zu einer trüben, aber völlig flüssigen Masse schmilzt, die sich bei 178,5° plötzlich klärt.<sup>3)</sup>

Die beim Schmelzen von Cholesterinderivaten auftretenden Farbenercheinungen wurden von Lehmann beschrieben.

Für die zweite von mir beobachtete Thatsache, dass der gleiche Körper, nachdem er einmal geschmolzen worden und wieder erstarrt ist, nur noch einen Schmelzpunkt (klare Schmelze) besitzt, konnte ich in der Litteratur kein Analogon finden.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1891, S. 37.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physik. Chemie. 4, S. 462.

<sup>3)</sup> Man vergleiche auch die Angaben Reinitzer's (Monatshefte f. Chemie. Bd. 9, S. 421).

Merkwürdiger Weise weist das von K. Hürthle<sup>1)</sup> mit thierischem Cholesterin dargestellte Cholesterylstearat nicht diese eigenthümlichen Schmelzpunkterscheinungen auf, sondern dieses schmilzt in gewöhnlicher Weise bei 82°. Zum Vergleich seien noch die Schmelzpunkte der 2 übrigen, von Hürthle dargestellten Ester erwähnt. Für den Oelsäureester des thierischen Cholesterins fand er 42° und für das Cholesterylpalmitat 78° als Schmelzpunkt. Diese Zahlen sind also für die Ester des Sitosterins (35,5° und 90°) ziemlich verschieden.

#### Oelsäureester.

Zur Darstellung wurden 3 g Sitosterin mit 15 g Oelsäure in einem mit Glasbirne bedeckten Kölbchen während 3 Stunden im Oelbad auf 200° erhitzt. Es resultirte eine klare, braune, ölige Flüssigkeit. Auf Zusatz von absolutem Alkohol entstand ein heller, feiner Niederschlag, der sich beim Umschütteln wieder löste. Der Alkoholzusatz wurde vermehrt, bis eine bleibende Trübung sich einstellte. Ich brachte nun den ganzen Inhalt des Erlenmeyer'schen Kölbchens in eine Glasschale und liess stehen. Nach einem Tag hatten sich die Wandungen des Gefässes ganz mit farblosen Krystallen ausgekleidet. Nach dem dritten Tag wurde die Flüssigkeit von den Krystallen, die sich unterdessen vermehrt und vergrössert hatten, abgegossen, die Mutterlauge etwas eingedampft und neuerdings zur Krystallisation hingestellt. Es schieden sich aber auch bei noch weiterem Eindampfen und Wiederstehenlassen keine Krystalle mehr aus, ein Zeichen, dass der Ester ganz oder doch zum grössten Theil schon das erste Mal auskrystallisirt war. In der Lösung wird im Wesentlichen nur noch überschüssige Oelsäure vorhanden gewesen sein. Sie wurde deshalb weggegossen. Der Körper wurde nun aus heissem absoluten Alkohol umkrystallisirt. Als etwas Bemerkenswerthes zeigte sich ein sehr niedriger Schmelzpunkt. In warmem Alkohol tritt schon vollständige Verflüssigung ein. Nach etwa fünfmaligem Umkrystallisiren hatte man Constanz des Schmelzpunktes erreicht.

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 346.

Letzterer betrug nun  $35,5^\circ$ . Der ganz reine Ester hatte sich zuletzt in der Krystallisirschale in zierlichen Krystallaggregaten am Boden abgesetzt. Die einzelnen Individuen, welche sich zu büschel- und strauchförmigen Gebilden zusammengethan hatten, zeigten deutliche Nadelform.

#### Elementaranalyse.

Berechnet für $C_{27}H_{45}O_2CC_{17}H_{33}$ ;	für $C_{24}H_{43}O_2CC_{17}H_{33}$
C = 83,08 %	C = 83,02 %
H = 12,00 %	H = 11,95
Verw. Subst. = 0,2036 g	
CO <sub>2</sub> = 0,6206 >	entspr. C = 83,13 %
H <sub>2</sub> O = 0,2214 >	H = 12,10

#### Schlussbemerkungen.

Nachdem die von R. Burián ausgeführte Untersuchung des Sitosterins von mir noch erweitert worden ist, indem ich noch eine Anzahl von Estern des Sitosterins darstellte, darf wohl der genannte Körper für das am eingehendsten untersuchte Glied der Phytosteringruppe erklärt werden.<sup>1)</sup> Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass in dem Sitosterin, nachdem dasselbe durch Umkrystallisiren vom Para-Sitosterin befreit ist, eine Substanz von einheitlicher Beschaffenheit vorliegt. Wäre letzteres nicht der Fall, so hätte doch der Schmelzpunkt des von mir dargestellten Sitosterins bei öfterem Wiederholen des Umkrystallisirens sich noch erhöhen müssen: es wäre ferner kaum möglich gewesen, dass ich aus den von den ersten Krystallisationen abfiltrirten Mutterlaugen noch ein Präparat erhielt, welches den gleichen Schmelzpunkt und das gleiche Drehungsvermögen besass, wie die zuerst gewonnenen Krystalle. Auch würde, falls meine Sitosterinpräparate nicht homogen gewesen wären, das doch bei Darstellung der Ester hervorgetreten sein, indem ich dabei nicht einheitliche Produkte, sondern Gemenge erhalten hätte. Es darf hier darauf hin-

<sup>1)</sup> Erst nachdem diese Arbeit schon abgeschlossen war, kam mir die Abhandlung von Bömer und Winter «Ueber einige Ester des Cholesterins und Phytosterins (Zeitschr. z. Unters. d. Nahr. und Genussmittel 1901) zu Gesicht. Die Verfasser theilen darin die Ergebnisse mit, die sie bei Darstellung einer Anzahl Ester des Cholesterins und des Phytosterins erhalten haben.

gewiesen werden, dass keineswegs für alle bis jetzt aus Pflanzen dargestellten Phytosterine die einheitliche Beschaffenheit bewiesen ist.

**Verändert sich das Phytosterin bei längerem Erhitzen mit alkoholischer Kali- oder Natronlauge?**

Wenn man behufs quantitativer Gewinnung von Cholesterinen aus Fetten die letztern mit Alkalien verseift und die Seife sodann in zweckentsprechender Weise behandelt, so setzt man voraus, dass das Cholesterin durch das Alkali nicht merklich verändert wird. Vor einigen Jahren haben aber L. Darmstädter und J. Lifschütz<sup>1)</sup> angegeben, dass das thierische Cholesterin beim Erhitzen mit alkoholischer Kalilauge langsam verändert werde. Es war erforderlich, zu prüfen, ob das auch für das Phytosterin gilt; denn gesetzt, dass dies der Fall wäre, so würden alle zur quantitativen Gewinnung von Phytosterinen aus Pflanzenfetten bis jetzt vorgeschlagenen Methoden mit einem Mangel behaftet sein.

Ich erhitzte von meinem Phytosterin (Sitosterin) ein Quantum von ungefähr 2 g in einem Rundkölbchen mit doppelt normaler (nach Angabe der Verfasser) alkoholischer Kalilauge während 8 Stunden auf dem Wasserbad. In der gelbbraun gefärbten Flüssigkeit hatten sich nach dem Erkalten wieder farblose Blättchen des Phytosterins ausgeschieden. Die Gelbfärbung kann man nicht als Zeichen der Umwandlung betrachten, weil alkoholische Kalilauge schon beim Stehen für sich allein sich gelbbraun färbt. Die Flüssigkeit wurde nun abfiltrirt, der Filtrerrückstand mit Wasser und etwas Alkohol ausgewaschen und das Filtrat eingedunstet, bis der Alkohol entfernt war. Es wurde dann wieder mit Wasser verdünnt und in einem Scheidetrichter mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde, um alles Alkali zu entfernen, mehreremals mit Wasser gewaschen und schliesslich eingedunstet.

**Eigenschaften des Filtrerrückstandes.**

Im Aussehen hat sich der Körper nicht geändert. Nur ist bei einem Theile der Masse ein Stich ins Gelbliche zu be-

<sup>1)</sup> Chem. Centralbl. 1898, Bd. II, S. 12.

merken. Als spezifisches Drehungsvermögen, bestimmt in der gleichen Weise wie früher, wurde für  $[\alpha]_D = -33,80^\circ$  gefunden. Als Lösungsmittel diente Chloroform. Das Drehungsvermögen hat sich also nicht geändert (die kleine Abweichung vom frühern Resultat liegt innerhalb der Grenze der Versuchsfehler). Der Schmelzpunkt lag bei  $136,5^\circ$ ; er ist also auch unverändert geblieben. Dieser hier vorliegende Filtrerrückstand machte weitaus den grössten Theil des für den Versuch verwendeten Phytosterins aus.

Eigenschaften der aus dem Filtrat durch Ausschütteln mit Aether gewonnenen Substanz.

Ich löste den Rückstand in 95%igem Weingeist und liess die Lösung wieder eindunsten. Dabei hinterblieb eine Substanz, welche das Aussehen der gewöhnlichen Phytosterinpräparate besass: nur war ein Stich ins Gelbliche wahrzunehmen. Der Schmelzpunkt von nur  $125^\circ$  liess jedoch vermuthen, dass der Körper durch das Erhitzen mit alkoholischer Kalilauge doch eine kleine Veränderung hätte erleiden können.

Der ganze Versuch hat gezeigt, dass weitaus der grösste Theil des Phytosterins durch das vorgenommene achtstündige Kochen mit alkoholischer Kalilauge nicht verändert worden ist. Der im Vergleich zur Hauptmasse sehr geringe Theil, der aus dem Filtrat erhalten worden ist, war, nach dem Aussehen zu schliessen, zum grössten Theil unverändertes Phytosterin gewesen, dem jedoch in kleiner Quantität etwas Anderes beigemischt war.

Ich stellte nun in nachstehend beschriebener Weise einen zweiten Versuch an, durch welchen ich mich zu ermitteln bemühte, wie viel Phytosterin sich beim längern Kochen mit alkoholischer Kalilauge verändert.

Es wurden für den Versuch 4,8 g Phytosterin verwendet. Ich erhitze während 16 Stunden mit doppelt normaler alkoholischer Kalilauge (34 g KOH + 100 ccm.  $H_2O$  + 100 ccm.  $C_2H_5OH$ ). Es wurden 300 ccm. dieser Flüssigkeit verwendet. Nach dem Erkalten schied sich der grösste Theil des Phytosterins aus. Es wurde abfiltrirt und zeigte sich rein weiss und äusserlich nicht verschieden vom ursprünglichen Produkt. Auch der Schmelzpunkt war unverändert, nämlich  $136,5^\circ$ .

Somit konnten die in der beschriebenen Weise erhaltenen Krystalle, welche die Hauptmasse des für den Versuch verwendeten Phytosterins ausmachten, für unverändertes Phytosterin erklärt werden. Es war nun nur noch erforderlich, die im Filtrat von diesen Krystallen enthaltene Substanz näher zu untersuchen. Das Filtrat wurde bis zur Entfernung des Alkohols eingedunstet, dann etwas mit Wasser verdünnt und im Scheidetrichter mit Aether geschüttelt. Zur Entfernung anhaftender Alkalien wurde die ätherische Lösung dann wiederholt mit Wasser gewaschen und schliesslich eingedunstet. Dabei schieden sich nadelförmige Krystalle von Phytosterin aus, wie man sie beim Eindunsten ätherischer Lösungen immer erhält. Sie waren etwas gelblich gefärbt. Der Schmelzpunkt betrug  $120^{\circ}$ . Ich krystallisirte nun aus wenig heissem Alkohol um. Die dabei ausgeschiedenen Krystalle besaßen ausser einem Stich ins Gelbliche das gewöhnliche Aussehen des Phytosterins. Der Schmelzpunkt lag bei  $136^{\circ}$ . Demnach lag ein Phytosterin vor, das höchstens durch Spuren anderer Substanzen verunreinigt war. Die gelbliche Mutterlauge von diesen Krystallen wurde eingedunstet, wobei eine ganz geringe Menge eines hellgelblichen Rückstandes blieb. Um auch hier noch wo möglich unverändertes Phytosterin herauszubringen, wurde dieser Rückstand aus möglichst wenig heissem Alkohol umkrystallisirt und die von den ausgeschiedenen Krystallen abfiltrirte Mutterlauge eingedampft und der Rückstand gewogen. Ich erhielt 0,0220 g eines schwach gelb gefärbten Körpers. Der Filtrerrückstand krystallisirte wie gewöhnliches Phytosterin und hatte einen schwachen Stich ins Gelbliche. Schmelzpunkt  $130^{\circ}$ . Um zu sehen, ob der beim Verdunsten der Mutterlauge erhaltene und gewogene Rückstand krystallinischer Structur war, löste ich in ganz wenig heissem absoluten Alkohol und liess erkalten. Es entstand ein fast weisser Rückstand mit krystallinischem Gefüge. Wenn nun in diesem Antheil gar kein unverändertes Phytosterin mehr wäre (was jedenfalls nicht anzunehmen ist), so betrüge doch der durch das 16 stündige Kochen mit alkoholischer Kalilauge umgewandelte Antheil des Phytosterins nur 0,46% der für den Versuch verwendeten Phytosterinmenge.

Aus den beiden Versuchen, deren Ergebnisse ich im Vorigen mitgetheilt habe, geht hervor, dass die Veränderung, welche das Phytosterin beim Erhitzen mit alkoholischer Kalilauge erleidet,<sup>1)</sup> jedenfalls eine äusserst geringe ist. Da man in dem zur Abscheidung der Cholesterine angewendeten Verfahren niemals 16 Stunden lang, sondern nur viel kürzere Zeit mit Alkalien erhitzt, so darf man behaupten, dass die Veränderung, welche das Phytosterin dabei erleidet, auf das Resultat nicht von merklichem Einfluss sein kann.

Ich würde zum Vergleich das gewöhnliche, thierische Cholesterin der gleichen Behandlung unterworfen haben, wie das Phytosterin, um zu prüfen, ob ersteres in stärkerem Maasse durch Einwirkung von alkoholischem Kali verändert wird, wenn ich ein hierzu geeignetes Präparat von thierischem Cholesterin zur Verfügung gehabt hätte. Dies war aber nicht der Fall. Einige in der Sammlung des hiesigen Instituts vorhandene Cholesterinpräparate, die vor ungefähr 25 Jahren aus Gallensteinen und andern Materialien dargestellt worden waren, zeigten auffälliger Weise bei Bestimmung des Schmelzpunktes ein ganz anormales Verhalten; sie begannen schon unter 100° unter Aufschäumen zu schmelzen. Vollständiges Schmelzen trat aber erst bei ca. 105° ein. Die Präparate hatten offenbar beim Aufbewahren eine Veränderung erlitten, bei der vielleicht das Licht von Einfluss war. Die Präparate standen nämlich, ohne vor dem Licht geschützt zu sein, in mit Glasstöpsel verschlossenen Gläsern in einem Glasschrank und hatten sich an der vordern Seite der Gläser allmählich gelb gefärbt, während sie ursprünglich ganz farblos waren. Es würde vielleicht von Interesse sein, diese Beobachtung, aus welcher man auf eine allmähliche Veränderung der Cholesterinpräparate schliessen muss, weiter zu verfolgen.

Zum Schluss erwähne ich, dass ich zur Ausführung der Untersuchungen, deren Resultate in dieser und in der vorhergehenden Abhandlung mitgetheilt sind, durch Prof. Dr. E. Schulze veranlasst wurde. Ich spreche dem Genannten für das Interesse, das er an meinem Arbeiten nahm, hier meinen besten Dank aus.

1) Falls überhaupt solche stattfindet.