

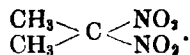
543. Otto Diels und Emil Abderhalden: Ueber den
Abbau des Cholesterins ¹⁾.

(I. Mittheilung.)

[Aus dem I. Berliner Universitäts-Laboratorium.]

(Eingegangen am 4. August 1903.)

Von zahlreichen Autoren und nach den verschiedensten Methoden ist die Oxydation des Cholesterins studirt worden, da man auf diesem Wege am ehesten die Structur des complicirten Moleküls zu ergründen hoffte. Aber mit der grossen Arbeit, die auf diesen Gegenstand verwendet worden ist, steht bis jetzt das Ergebniss nicht im Einklang, denn entweder werden bei der Oxydation ganz niedrige Säuren, wie Essigsäure und Oxalsäure, erhalten, oder aber die Oxydationsproducte, — soweit es sich um Säuren handelt — sind amorph und lassen sich nicht genügend charakterisiren. Erst in der neuesten Zeit ist es A. Windaus ²⁾ gelungen, zwei wohldefinierte Oxydationsproducte des Cholesterins zu fassen, welche für die Cholesterinfrage von gewisser Bedeutung sind. Er erhielt nämlich Bernsteinsäure und Dinitroisopropan,



Die Isolirung der letzteren Verbindung liefert den experimentellen Beweis, dass im Cholesterin die Atomgruppierung: $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} > \text{C} <$ enthalten ist.

Ebenso wenig wie die sauren, haben die indifferenten Oxydationsproducte des Cholesterins irgend welche Aufklärung gebracht. Sie sind zwar wohlcharakterisirt, enthalten aber noch das ganze Kohlenstoffgerüst des Ausgangsmaterials.

Uns erschien es aussichtsreich, die Oxydation des Cholesterins mit alkalischer Bromlösung zu versuchen, ein Problem, welches offenbar noch nicht in Angriff genommen ist, und welches uns zu folgenden Resultaten führte: Cholesterin wird von dem eben genannten Reagens leicht angegriffen, und wir konnten aus dem Reaktionsgemisch eine Säure isoliren, welche im Gegensatz zu sämmtlichen, bisher be-

¹⁾ Hier wie überhaupt in dieser Arbeit ist unter Cholesterin stets aus Gallensteinen gewonnenes Material zu verstehen, welches wir den HHrn. Professoren Ehrlich (Frankfurt a. M.), v. Hansemann (Berlin), Kaufmann (Basel), Langerhans (Bern) verdanken. Auch an dieser Stelle sei es uns gestattet, den genannten Herren nochmals unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

²⁾ A. Windaus, Habilitationsschrift 1903.

kannten, aus dem Cholesterin erhaltenen Säuren prachtvoll krystallisiert, in den gebräuchlichen Lösungsmitteln sehr schwer löslich ist, und sich durch ihren hohen Schmelzpunkt (290°) auszeichnet. Auch der Aethyl-Ester dieser Säure besitzt sehr schöne Eigenschaften, und sein Molekulargewicht konnte ohne Schwierigkeit bestimmt werden. Hieraus, sowie aus dem Ergebniss der Analysen, lässt sich der Schluss ziehen, dass der Säure die Formel $C_{20}H_{32}O_3$, dem Ester $C_{22}H_{36}O_3$ zukommt.

Es verdient hier besonders betont zu werden, dass die Verbrennung dieser Substanzen mit Kupferoxyd stets wechselnde Resultate lieferte, und erst bei der Anwendung von Bleichromat zu übereinstimmenden Werthen führte. Eigenthümlich ist es, dass auch die Zahlen für Wasserstoff bei den Verbrennungen mit Bleichromat wesentlich höher liegen, als bei der Analyse mit Kupferoxyd. Es scheint so, als ob sich bei der Verbrennung Kohlenwasserstoffe bilden, welche nur bei der energischen Behandlung mit glühendem Bleichromat völlig verbrannt werden. Diese Beobachtung soll weiter verfolgt werden.

Die Säure $C_{20}H_{32}O_3$ verhält sich wie eine gesättigte Verbindung, denn bei der Behandlung des Esters mit Brom tritt keine Addition, sondern Substitution ein. Es erscheint ja auch von vornherein sehr plausibel, dass bei der Einwirkung von Hypobromit das Molekül des Cholesterins an der doppelten Bindung gesprengt wird.

Die Function des dritten Sauerstoffatoms der erwähnten Säure konnten wir bisher noch nicht mit Sicherheit ermitteln; denn ebenso wenig wie wir die Säure in ein Hydrazon verwandeln konnten, gelang uns ihre Acetylierung. Diese Thatsachen sprechen für das Vorhandensein einer tertiären Hydroxylgruppe, welche — wie auch aus der Chemie des Cholesterins hervorgeht — einer Acetylierung bisweilen einen unüberwindlichen Widerstand entgegensetzt. Dass bei der Oxydation des Cholesterins ein tertiär gebundenes Wasserstoffatom leicht zum Hydroxyl oxydirt werden kann, hat Windaus in seiner bereits erwähnten Abhandlung besonders nachgewiesen.

Für die Annahme eines tertiären Hydroxyls in der Säure $C_{20}H_{32}O_3$ scheint uns schliesslich besonders die Existenz eines eigenthümlich zusammengesetzten, hübsch krystallisirten Silbersalzes zu sprechen, welches leicht aus der Säure dargestellt werden kann. Dieses hat nach dem Ergebniss zahlreicher, an den verschiedensten Substanzproben ausgeführter Analysen die Formel $C_{40}H_{61}O_6 Ag_3$, und muss danach wohl aufgefasst werden als ein Salz, in welchem die eine Hydroxylgruppe des aus zwei Säurecomplexen bestehenden Moleküls, ebenso wie die beiden Carboxylgruppen durch Silber substituirt sind. Wir bemerken ausdrücklich, dass die Zusammengehörigkeit der Säure, des Esters und des Silbersalzes besonders experimentell festgestellt wurde. Sowohl bei der Verseifung des Esters, wie bei der Zerlegung des Silbersalzes

mit Schwefelwasserstoff, wurde die ursprüngliche Säure $C_{20}H_{32}O_3$ zurückgewonnen.

Wir behalten uns das weitere Studium dieser Säure und ihrer Derivate nach jeder Richtung hin vor. Ferner beabsichtigen wir, die Einwirkung der freien unterbromigen und unterchlorigen Säure auf das Cholesterin zu studiren, und werden die gleichen Reactionen auf pflanzliches Cholesterin übertragen. Endlich gedenken wir, die bei der Reaction mit unterbromiger Säure auftretenden, anderen Reactionsproducte genauer zu untersuchen, und hoffen über unsere Resultate bald weitere Mittheilungen machen zu können.

Einwirkung von Natriumhypobromit auf Cholesterin: Bildung der Säure $C_{20}H_{32}O_3$.

75 g Brom werden unter sorgfältiger Kühlung in ein Gemisch von 250 ccm 33-procentiger Kalilauge und 500 ccm Wasser eingetragen. Zu dieser Bromlauge fügt man dann 50 g fein gepulvertes Cholesterin hinzu und schüttelt das Gemisch auf der Maschine.

Die Reaction giebt sich durch deutliche Erwärmung zu erkennen. Die gelbe Farbe des Reaktionsgemisches wird heller, und es tritt sehr starke Schaumbildung ein. Nach 6 Stunden ist der Versuch beendet und das Cholesterin bis auf geringe Mengen einer zähen, am Glase haftenden Masse verschwunden. Die grünliche, alkalische Flüssigkeit wird durch ein trocknes Faltenfilter filtrirt, das Filtrat mit Eis gekühlt und mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Hierbei fällt eine weisse, amorphe Masse von halbfester Consistenz in reichlicher Menge aus. Zur völligen Abscheidung überlässt man das Gemisch circa 15 Stunden sich selbst, saugt dann den Niederschlag auf gehärtetes Filtrirpapier ab und wäscht ihn mit Wasser aus. Hierauf wird die möglichst gut abgepresste Masse, um ihr Wasser und ölige Bestandtheile zu entziehen, mit 150—200 ccm absolutem Alkohol aufgekocht, und nachdem das Product körnig geworden ist, in Eis einige Stunden abgekühlt. Der Niederschlag besteht aus Kaliumsulfat und der Säure $C_{20}H_{32}O_3$, während der Alkohol andere, vorläufig noch nicht genauer untersuchte Producte aufgenommen hat. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit wenig reinem Alkohol ausgewaschen und dann mit 800 ccm Methyläthylketon etwa $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückflusskühler ausgekocht. Vom Kaliumsulfat filtrirt man heiss ab, und engt das Filtrat bis zur beginnenden Krystallabscheidung ein, worauf man die Lösung der Krystallisation überlässt. Nach etwa 15 Stunden hat sich eine reichliche Menge (6 g) schöner und charakteristischer Krystalle abgeschieden. Filtrirt man diese und dampft das Filtrat abermals stark ein, so gewinnt man eine zweite, nicht ganz reine Kry-

stallisation (2 g). Zur Reinigung krystallisirt man die Säure noch 2 Mal aus siedendem Methyläthylketon um. Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° getrocknet und mit Bleichromat verbrannt.

0.1513 g Sbst.: 0.4146 g CO₂, 0.1403 g H₂O. — 0.1520 g Sbst.: 0.4150 g CO₂, 0.1396 g H₂O. — 0.1580 g Sbst.: 0.4342 g CO₂, 0.1467 g H₂O. — 0.1903 g Sbst.: 0.5227 g CO₂, 0.1775 g H₂O.

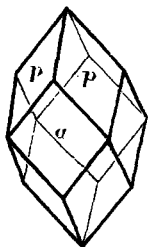
C₂₀H₃₂O₃. Ber. C 75.00,

H 10.00.

Gef. » 74.73, 74.46, 74.94, 74.91, » 10.30, 10.20, 10.32, 10.32.

Die Krystallform der aus Methyläthylketon umkrystallisirten Säure ist sehr charakteristisch und bot der krystallographischen Bestimmung keine Schwierigkeit. Die Letztere wurde durch Vermittelung des Hrn. Geh. Reg.-Raths Prof. Dr. C. Klein von Hrn. Dr. v. Wolf, Assistenten am hiesigen mineralogischen Institute, ausgeführt. Beiden Herren erlauben wir uns auch an dieser Stelle nochmals unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

Das Ergebniss der krystallographischen Bestimmung ist folgendes:



System: Tetragonal-holoëdrisch.

Axenverhältniss: $a : c = 1 : 1.1121$.

Beobachtete Formen:

$p = \check{P} (111)$, $a = \infty P \infty (100)$.

$p : p = \bar{1}\bar{1} : 111 = 106^\circ 44'$.

Die Säure bildet wasserklare, gut ausgebildete Krystalle der beistehenden Form.

Spaltbar ausgezeichnet nach $\infty P \infty$, weniger vollkommen nach \check{P} . — Optisch einaxig von positivem Charakter der Doppelbrechung. — Die Aetzfiguren, die man auf $a = \infty P \infty (100)$ durch Einwirkung von Ammoniakdämpfen erhält, weisen nicht auf das Vorhandensein einer Hemiëdrie hin.

Beim Erhitzen im Capillarrohr beginnt die Säure bei etwa 282° deutlich zu sintern und schmilzt bei 290° (corr. 297°) unter Blasenwerfen zu einer gelblichen Flüssigkeit.

Von Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln wird die Verbindung recht schwierig aufgenommen, so von Aether, Alkohol, Essigester und Petroläther, etwas leichter von kochendem Aceton und Eisessig. Die besten Lösungsmittel sind Diäthyl- sowie Methyläthylketon. Von Letzterem werden ungefähr 100 Theile in der Siedehitze zur Lösung verbraucht.

Von verdünnten Alkalilaugen und Ammoniak wird die Säure sehr leicht aufgenommen. Das Kaliumsalz ist in Wasser leicht löslich; versetzt man die Lösung mit mehr Lauge, so scheidet es sich amorph aus, wird aber krystallinisch, wenn man es durch Erwärmen löst und dann ganz langsam wieder abscheiden lässt. Die alkalischen und ammoniakalischen Lösungen der Säure schäumen sehr stark.

Die Salze der Säure mit Erdalkalimetallen sind amorph und in Wasser schwer löslich.

Sehr charakteristisch ist das Silbersalz.

Silbersalz, $C_{40}H_{61}O_6 Ag_3$.

10.5 g der sorgfältig gereinigten Säure werden in 150 ccm Wasser und 15 ccm Ammoniak gelöst, mit 100 ccm einer 10-procentigen, wässrigen Silbernitratlösung versetzt und abermals 15 ccm Ammoniak hinzugefügt, wobei das zunächst ausgefallene, gelatinöse Silbersalz wieder in Lösung geht. Hierauf erhitzt man die klare Lösung etwa 2 Stunden auf dem Wasserbade. Bald beginnt die Abscheidung äusserst feiner, flimmernder Krystallnadelchen, welche schliesslich die Flüssigkeit breiartig erfüllen. Ohne die völlige Abscheidung des Silbersalzes abzuwarten, wird es nach der angegebenen Zeit heiss abgesaugt und mit heissem Wasser völlig ausgewaschen. Zunächst trocknet man die Verbindung bei Lichtabschluss im Vacuum über Schwefelsäure, dann bis zur Gewichtsconstanz bei 115° . Die Ausbeute beträgt unter den eben beschriebenen Arbeitsbedingungen 5 g. Die Kohlenwasserstoffbestimmung wurde auch hier mit Bleichromat ausgeführt.

0.1689 g Sbst.: 0.3069 g CO_2 , 0.0998 g H_2O . — 0.1381 g Sbst.: 0.2503 g CO_2 , 0.0830 g H_2O . — 0.1481 g Sbst.: 0.0487 g Ag. — 0.2382 g Sbst.: 0.0790 g Ag.

$C_{40}H_{61}O_6 Ag_3$. Ber. C 49.94, H 6.34, Ag 33.71.

Gef. » 49.50, 49.43, » 6.50, 6.67, » 32.87, 33.16.

Zur Regenerirung der Säure aus diesem Silbersalz wurde folgendermaassen verfahren:

1 g Silbersalz wird in 50 ccm absolutem Alkohol suspendirt und Schwefelwasserstoff bis zur Sättigung eingeleitet. Hierauf erhitzt man kurze Zeit bis zum Sieden, filtrirt heiss ab, kocht das Schwefelsilber nochmals mit wenig Alkohol aus, und lässt die Filtrate krystallisiren. Man erhält so 0.5 g der Säure, welche durch den Schmelzpunkt und die Löslichkeit identificirt wurde. Das Ergebniss der Analyse ist folgendes:

0.158 g Sbst.: 0.4342 g CO_2 , 0.1467 g H_2O .

$C_{20}H_{32}O_3$. Ber. C 75.00, H 10.00.

Gef. » 74.94, » 10.32.

Umwandelung der Säure $C_{20}H_{32}O_3$ in den Aethyl-Ester

$C_{22}H_{36}O_3$.

2 g der eben beschriebenen, sehr fein gepulverten Säure werden mit 40 ccm einer 3-procentigen, äthylalkoholischen Salzsäure etwa 8 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur auf der Maschine geschüttelt. Nach dieser Zeit ist entweder eine klare Lösung entstanden, oder aber

es hat sich bereits eine geringe Menge des Esters abgeschieden. Man dunstet die Lösung im Vacuum über Schwefelsäure sehr stark ein, filtrirt die ausgeschiedenen Krystalle (2 g) ab und krystallisirt sie ein oder zwei Mal aus wenig siedendem Methylalkohol um. Zur Analyse wurde die so gereinigte Verbindung bei 100° getrocknet und mit Bleichromat verbrannt.

0.1383 g Sbst.: 0.3834 g CO₂, 0.1319 g H₂O.

C₂₂H₃₆O₃. Ber. C 75.86, H 10.34.

Gef. » 75.60, » 10.59.

Die Molekulargewichtsbestimmung wurde sowohl nach der Methode der Gefrierpunktserniedrigung, wie der der Siedepunktserhöhung ausgeführt.

0.2097 g Sbst.: 26.06 g Eisessig, 0.094° Depression. — 0.2706 g Sbst.: 19.20 g Eisessig, 0.156° Depression. — 0.2677 g Sbst.: 13.01 g Aceton, 0.105° Erhöhung. — 0.2977 g Sbst.: 20.52 g Aceton, 0.075° Erhöhung.

C₂₂H₃₆O₃. Ber. M 348. Gef. M 333, 352, 333, 328.

Beim Erhitzen im Capillarrohr beginnt der Ester bei etwa 143° zu sintern und schmilzt bei 149° (corr. 151°).

Von Wasser wird der Ester kaum, reichlich dagegen von heissem Methyl- oder Aethyl-Alkohol, sowie von Aceton aufgenommen. Er krystallisirt aus diesen Lösungsmitteln in schönen, glänzenden, langgestreckten, meist sechsseitigen Tafeln. — Eisessig, Benzol und Chloroform lösen die Substanz bereits in der Kälte leicht auf.

Wird eine Lösung des Esters in Chloroform mit einer verdünnten Lösung von Brom in demselben Lösungsmittel versetzt, so lässt sich keine Entfärbung beobachten, dagegen deutet die alsbald beginnende Bromwasserstoffentwicklung auf eine Substitution hin.

Verseifung des Esters.

0.2 g Ester C₂₂H₃₆O₃ werden mit 20 ccm Wasser und etwa 0.5 ccm 33-procentiger Kalilauge aufgeköcht. Zunächst bildet sich um jedes feste Partikelchen eine farblose, durchscheinende Hülle, und nach kurzer Zeit entsteht eine klare Lösung. Bei diesem Zeitpunkt ist indessen die Verseifung noch nicht vor sich gegangen, denn beim Ansäuern einer Probe der alkalischen Lösung fällt der unveränderte Ester aus, welcher nach dem Umkrystallisiren den richtigen Schmelzpunkt zeigte. Um die Verseifung complett zu machen, wird die alkalische Lösung noch zwei Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, hierauf unter Eiskühlung mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, und die abgeschiedene Säure in üblicher Weise durch Umkrystallisiren gereinigt. Der Schmelzpunkt liegt bei 290° (corr. 297°).