

97. A. Windaus und C. Resau: Über die Oxydation des Cholesteryl-acetats mit Chromsäure.

(XX. Mitteilung zur Kenntnis des Cholesterins.)

[Aus dem Institut für angewandte medizinische Chemie in Innsbruck.]

(Eingegangen am 15. April 1915.)

Schon Mauthner und Suida haben Cholesterylacetat,  $C_{27}H_{45}(O.CO.CH_3)$ , in essigsaurer Lösung mit Chromsäure oxydiert<sup>1)</sup> und hierbei als hauptsächliches Oxydationsprodukt  $\beta$ -Oxy-cholestenolacetat,  $C_{27}H_{43}O(O.CO.CH_3)$ , erhalten. Dieses Produkt, der Essigsäureester eines Ketonalkohols, liefert bei der Verseifung zunächst das freie  $\beta$ -Oxy-cholestenol,  $C_{27}H_{44}O_2$ , das indessen sehr leicht Wasser abspaltet und in ein ungesättigtes Keton, das Oxy-cholesterylen  $C_{27}H_{42}O$ , übergeht<sup>2)</sup>. Nach welchem Reaktionsschema das  $\beta$ -Oxy-cholestenolacetat aus dem Cholesterylacetat entsteht, ist bisher nicht klargelegt worden. Wir haben darum die Untersuchung dieses Oxydationsvorganges wieder aufgenommen und sind dabei zu den folgenden Resultaten gelangt.

Das Oxy-cholesterylen ist wahrscheinlich ein doppelt ungesättigtes Keton. Bei langdauernder Einwirkung von Platin und Wasserstoff liefert es  $\beta$ -Cholestan, den gesättigten Stammkohlenwasserstoff der Cholesterinreihe. Das Oxy-cholesterylen besitzt also noch dasselbe Kohlenstoffskelett wie das Cholesterin; eine Ringbildung, wie sie vermutlich bei der Oxydation des freien Cholesterins mit Chromsäure eintritt<sup>3)</sup>, hat hier nicht stattgefunden. Bei der Reduktion mit Natrium und Äthylalkohol nimmt das Oxy-cholesterylen 4 Atome Wasserstoff auf und geht in einen Alkohol vom Schmp.  $116^\circ$  und der Formel  $C_{27}H_{46}O$  über. Dieser Alkohol, der Pseudocholesterin heißen soll, addiert noch Brom; er besitzt besonderes Interesse, weil er das erste künstlich bereitete Strukturisomere<sup>4)</sup> des Cholesterins darstellt und weil solche Isomere vermutlich in den zahlreichen Sterinen,  $C_{27}H_{46}O$ , des Tier- und Pflanzenreiches vorliegen. In seinen Farbenreaktionen und Löslichkeitsverhältnissen ist das Pseudocholesterin dem Cholesterin sehr ähnlich, doch zeigt es zwei wesentliche Unter-

<sup>1)</sup> M. 17, 594 [1896].

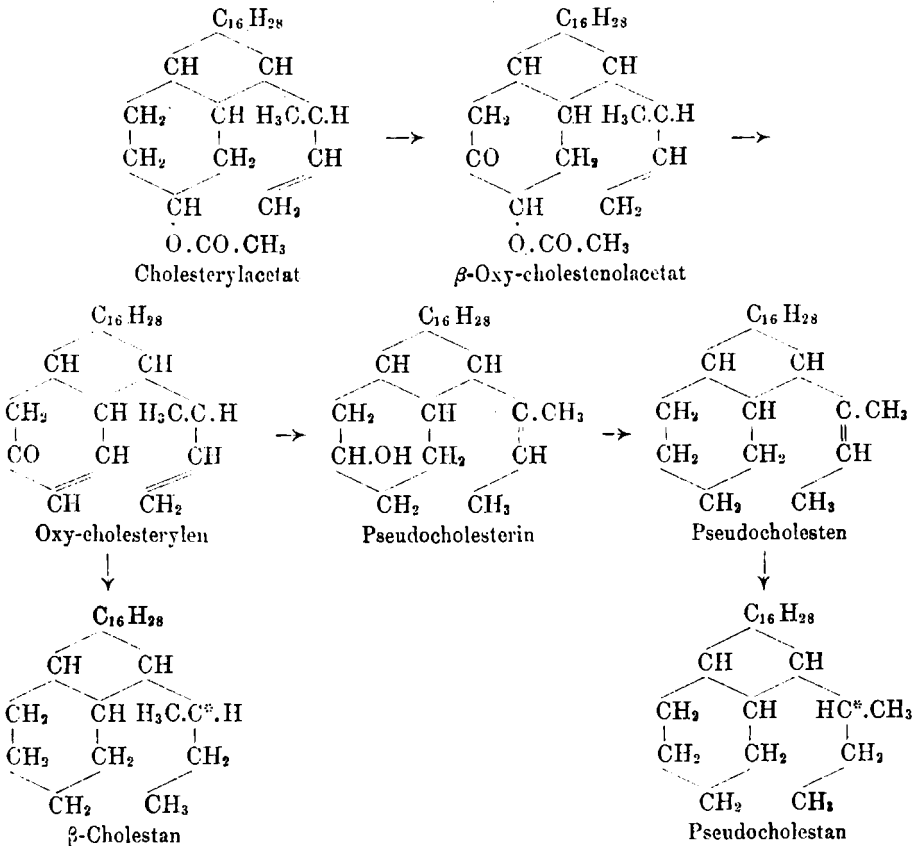
<sup>2)</sup> Mauthner und Suida, die für das Cholesterin an Stelle der Formel  $C_{27}H_{46}O$  die Formel  $C_{27}H_{44}O$  vorziehen, haben auch diesem Oxydationsprodukt zwei Wasserstoffatome weniger erteilt als in den obenstehenden Formeln angenommen worden sind.

<sup>3)</sup> Windaus, B. 39, 2262 [1906].

<sup>4)</sup> Das  $\beta$ -Cholesterin von Diels und Linn ist wahrscheinlich ein stereoisomeres Cholesterin, B. 41, 260 [1908].

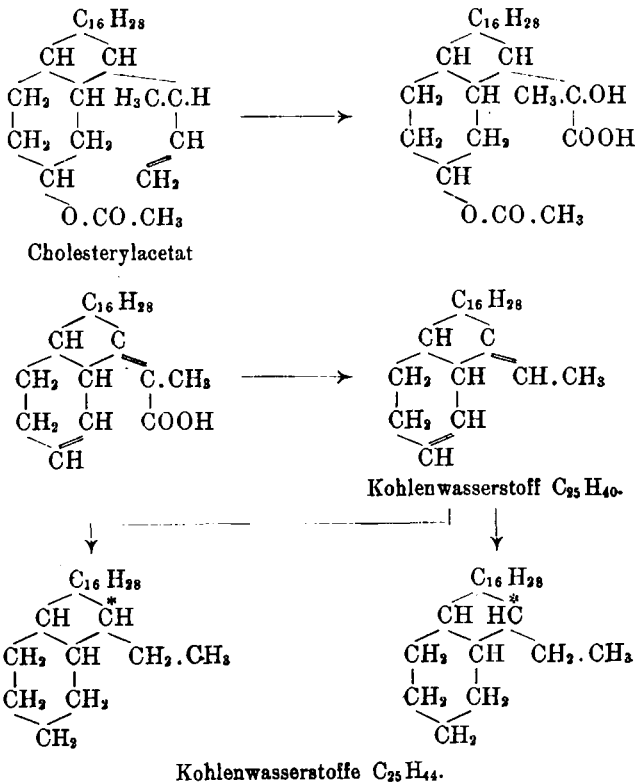
schiede gegenüber dem gewöhnlichen Cholesterin; es dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts und es gibt mit Saponinen keine Additionsverbindungen.

Bei der Reduktion des Oxy-cholesterylens mit Natrium und Äthylalkohol muß eine Umlagerung oder eine Verschiebung der doppelten Bindungen vor sich gehen. Wird nämlich im Pseudocholesterin die Hydroxylgruppe durch Wasserstoff ersetzt, erhält man nicht das erwartete Cholestan, welches dem Cholesterin entspricht, sondern ein Isomeres, das Pseudocholesten von Mauthner<sup>1)</sup>, das auch bei vollständiger Reduktion nicht das gewöhnliche Cholestan, sondern hauptsächlich Pseudocholestan liefert. Die erwähnten Umsetzungen können durch die folgenden Formeln veranschaulicht werden, die indessen nicht frei von willkürlichen Annahmen sind.



<sup>1)</sup> M. 28, 1117 [1907].

Bei der Darstellung des  $\beta$ -Oxy-cholestenolacetats entstehen auch saure Oxydationsprodukte. Da diese nicht krystallisieren, haben wir sie im Vakuum destilliert, wobei sie unter Abspaltung von Kohlendioxyd und Essigsäure einen doppelt ungesättigten Kohlenwasserstoff von der Formel  $C_{25}H_{40}$  liefern. Die Säure, aus welcher dieser Kohlenwasserstoff hervorgeht, ist also wahrscheinlich das Acetyl-derivat einer Oxysäure mit 26 Kohlenstoffatomen. Der Kohlenwasserstoff  $C_{25}H_{40}$ , der prächtig krystallisiert, nimmt bei der Reduktion vier Atome Wasserstoff auf und gibt, da hierbei ein neues asymmetrisches Kohlenstoffatom gebildet wird, ein Gemisch zweier stereoisomerer Kohlenwasserstoffe von der Formel  $C_{25}H_{44}$ . Ein Versuch, die erwähnten Reaktionen zu veranschaulichen, soll sich ganz an die frühere Formulierung der Cholesten-Oxydationsprodukte anschließen<sup>1)</sup>.



<sup>1)</sup> B. 47, 1231 [1914].

### Experimenteller Teil.

Das zu den Versuchen verwendete Oxy-cholesterylen haben wir durch Oxydation des Cholesterylacetats mit Chromsäure nach den Angaben von Mauthner und Suida bereitet. Hierbei entsteht neben amorphen Säuren (siehe unter B) das  $\beta$ -Oxy-cholestenolacetat, das wir durch Verseifung mit alkoholischer Salzsäure in Oxy-cholesterylen übergeführt haben.

#### A. Umsetzungen mit Oxy-cholesterylen.

1. Reduktion des Oxy-cholesterylens mit Platin und Wasserstoff: 3 g Oxy-cholesterylen wurden in Äther gelöst und nach Willstätter und Mayer<sup>1)</sup> mit Platinmohr und Wasserstoff drei Tage behandelt. Nach dem Filtrieren wurde der Äther abgedunstet und der Rückstand wiederholt aus Alkohol umkrystallisiert. Man erhält so glänzende Blättchen, die bei 80° schmelzen und von Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure nicht verändert werden. Wie die Analyse ergibt, stellt das Reduktionsprodukt einen Kohlenwasserstoff von der Formel  $C_{27}H_{48}$  dar.

0.1646 g Sbst.: 0.5257 g  $CO_2$ , 0.1912 g  $H_2O$ .

$C_{27}H_{48}$ . Ber. C 87.01, H 12.99.

Gef. » 87.10, » 12.99.

Der Kohlenwasserstoff besitzt denselben Schmelzpunkt und dieselbe Krystallform wie das  $\beta$ -Cholestan. Ein von Hrn. Prof. Diels freundlichst zur Verfügung gestelltes Präparat von  $\beta$ -Cholestan gab keine Schmelzpunktserniedrigung mit unserem Material, so daß die Identität sichergestellt erscheint.

2. Reduktion des Oxy-cholesterylens mit Natrium und Äthylalkohol: 8 g Oxy-cholesterylen wurden in absolutem Alkohol gelöst und allmählich in der Siedehitze mit 14 g metallischem Natrium versetzt. Nachdem alles Natrium gelöst war, wurde Wasser bis zur Trübung hinzugefügt; bei langsamem Abkühlen schieden sich schöne, farblose Krystallnadeln ab, die meist durch etwas braungefärbte Schmiere verunreinigt waren. Durch Behandeln mit verdünntem Alkohol und Abgießen von der schwer löslichen Schmiere wurde das Reduktionsprodukt, das Pseudocholesterin, rein erhalten. Es zeigt den Schmp. 116° und ist sehr leicht löslich in Äther, Benzol, Chloroform und Essigester, ziemlich leicht löslich in Aceton und absolutem Alkohol, schwer löslich in verdünntem Alkohol und Petroläther. Das Pseudocholesterin nimmt deutlich Brom auf und gibt die typische Liebermann-Burchardsche Cholestolprobe, dagegen liefert es mit Digitonin keine schwer lösliche Additionsverbindung.

<sup>1)</sup> B. 41, 2199 [1908].

0.1927 g Sbst.: 0.5906 g CO<sub>2</sub>, 0.2070 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O. Ber. C 83.86, H 12.00.

Gef. » 83.59, » 12.02.

0.2344 g Sbst. wurden zu 25 ccm Benzol gelöst, l = 200 mm, α = + 1.08°.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 57.59°.

Benzoat: 1 g Pseudocholesterin wurde in Pyridin gelöst und mit 1 ccm Benzoylchlorid versetzt. Nach zwei Tagen wurde das gebildete Benzoat mit Wasser als braune Masse ausgefällt und wiederholt aus Äther-Alkohol umkrystallisiert. Man erhält so einen Filz mikroskopisch feiner Nadeln, die den Schmp. 155—156° zeigen und selbst in heißem Alkohol schwer löslich sind.

0.2302 g Sbst.: 0.7049 g CO<sub>2</sub>, 0.2148 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 83.21, H 10.28.

Gef. » 83.51, » 10.44.

3. Übergang von Pseudocholesterin in Pseudocholesten: 2 g Pseudocholesterin wurden in der üblichen Weise mit Phosphor-pentachlorid in das Chlorid verwandelt; da dieses nicht krystallisierte, wurde es sofort in absolut-alkoholischer Lösung mit Natrium reduziert. Nach Verbrauch von 5 g Natrium wurde die Lösung vorsichtig mit Wasser verdünnt und erkalten gelassen. Der gesuchte Kohlenwasserstoff schied sich dann in flachen Nadeln ab, die aus Äther-Alkohol umkrystallisiert wurden. Sie schmelzen bei 78—79°, sie addieren ein Molekül Brom und liefern hierbei ein Dibromid vom Schmp. 116°. Hieraus ergibt sich, daß der erhaltene ungesättigte Kohlenwasserstoff nicht, wie erwartet, mit dem Cholesten identisch ist, das bei 89—90° schmilzt und auch ein Dibromid von ganz anderen Eigenschaften liefert<sup>1)</sup>. Dagegen stimmen die Eigenschaften unseres Kohlenwasserstoffs gut mit denjenigen des Pseudocholestens überein, das bei 78—79° schmilzt und ein Dibromid vom Schmp. 116—117° gibt<sup>2)</sup>. Wir haben darum Hrn. Prof. Mauthner gebeten, uns ein Vergleichspräparat seines Pseudocholestens zusenden zu wollen. Das uns übersandte Pseudocholesten, für welches wir Hrn. Prof. Mauthner vielmals danken, ergab mit unserem Kohlenwasserstoff keine Schmelzpunktserniedrigung, so daß wir die Identität für sichergestellt erachten.

### B. Umsetzungen mit den sauren Oxydationsprodukten des Cholesterylacetats.

Die bei der Oxydation des Cholesterylacetats erhaltenen Säuren stellen gelbe, gummiartige Massen dar; sie wurden in eine Retorte gebracht und im Vakuum erhitzt; bei einer Temperatur von 320° des Luftbades und bei 25 mm Druck destillierte ein schwach gelb ge-

<sup>1)</sup> M. 15, 86 [1894].

<sup>2)</sup> Mauthner, loc. cit.

färbtes Öl über, das meist schon im Retortenhals und in der Vorlage krystallinisch wurde und im Verlauf einer Stunde vollständig zu einer festen Masse erstarrt war. Diese wurde in Äther gelöst und zur Entfernung saurer Verunreinigungen mit verdünnter Kalilauge durchgeschüttelt; dann wurde die ätherische Lösung abdestilliert und der Rückstand wiederholt aus siedendem Alkohol umkrystallisiert. Man erhält so den neuen Kohlenwasserstoff in prächtigen Krystallnadeln, die bei 76° schmelzen; sie sind leicht löslich in Äther, Benzol, Chloroform und Essigäther, schwer löslich in kaltem Äthylalkohol und in Methylalkohol. Bei der Liebermann-Burchardschen Probe tritt nur eine gelbrote Verfärbung auf, die allmählich in rotbraun übergeht.

0.2105 g Sbst.: 0.6777 g CO<sub>2</sub>, 0.2306 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>. Ber. C 88.15, H 11.85.

Gef. » 87.81, » 12.25.

0.5393 g Sbst. wurden zu 25 ccm Benzol gelöst, l = 200 mm, α = -6.18°.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -142.9°.

Bromid: Obschon der Kohlenwasserstoff C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>, wie die Reduktion beweist, zwei doppelte Bindungen besitzt, nimmt er doch nur 1 Mol. Brom auf. Zur Bereitung des Bromids wurde 1 g Kohlenwasserstoff in möglichst wenig Äther gelöst und mit einer Brom-Eisessiglösung versetzt, bis die braune Farbe des Broms bestehen blieb. Nach einigem Stehen schied sich das Dibromid in kleinen, glänzenden Krystallen aus, die aus Aceton umkrystallisiert wurden. Man erhält so lange, dünne Nadelchen vom Schmp. 147°, die sich leicht in Äther, schwer in Eisessig lösen.

3.935 mg Sbst.: 8.65 mg CO<sub>2</sub>, 2.87 mg H<sub>2</sub>O. — 5.685 mg Sbst.: 9.32 mg AgBr.

C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>Br<sub>2</sub>. Ber. C 59.98, H 8.06, Br 31.96.

Gef. » 59.96, » 8.16, » 32.34.

Reduktion des Kohlenwasserstoffs C<sub>25</sub>H<sub>40</sub> mit Platin und Wasserstoff: 6 g des Kohlenwasserstoffs C<sub>25</sub>H<sub>40</sub> wurden in Äther gelöst und mehrere Stunden mit Platinmohr und Wasserstoff behandelt, wobei ein lebhafter Verbrauch von Wasserstoff stattfand; nach dem Filtrieren und Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand aus Alkohol umkrystallisiert und in perlmutterglänzenden Täfelchen erhalten; diese waren indessen noch nicht rein, da sie ein zwar geringes, aber deutliches Aufnahmevermögen für Brom besaßen.

Um den gesättigten Kohlenwasserstoff ganz frei von ungesättigten Verunreinigungen zu erhalten, haben wir ein sehr brauchbares Verfahren aufgefunden, das uns inzwischen häufig gute Dienste geleistet hat. Löst man nämlich das Gemisch der Kohlenwasserstoffe in wenig Äther oder Chloroform und fügt Essigsäureanhydrid und etwas

konzentrierte Schwefelsäure hinzu, so wird der gesättigte Kohlenwasserstoff nicht angegriffen und scheidet sich nach dem Verdunsten des Äthers in schönen Krystallen aus, während der ungesättigte Kohlenwasserstoff in ein wasserlösliches Derivat verwandelt wird. Mit konzentrierter Schwefelsäure allein läßt sich die Trennung nicht bewerkstelligen, der Zusatz von Essigsäureanhydrid ist wesentlich.

Auf diesem Wege erhielten wir nunmehr ein vollkommen gesättigtes Reduktionsprodukt vom Schmp. 65°. Dieses Reduktionsprodukt stellt, wie schon im theoretischen Teil erwähnt, eine Mischung zweier optischer Isomeren dar, die nicht Spiegelbilder sind. Durch häufiges Umkrystallisieren aus Äthylalkohol gelang es, die höher schmelzende Modifikation in langen, dünnen Nadeln vom Schmp. 80° zu erhalten; das niedriger schmelzende und leichter lösliche Isomere zeigte selbst nach häufigem Umkrystallisieren noch einen unscharfen Schmelzpunkt zwischen 55° und 59°; es krystallisiert in dünnen, glasglänzenden Blättchen. Die Liebermann-Burchardsche Probe ist bei beiden Isomeren negativ.

4.507 mg Subst. (Schmp. 80°): 14.385 mg CO<sub>2</sub>, 5.21 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>25</sub>H<sub>44</sub>. Ber. C 87.13, H 12.88.

Gef. » 87.05, » 12.94.

## 98. A. Windaus und O. Ubrig: Über Koprosterin. (XXI. Mitteilung zur Kenntnis des Cholesterins.)

[Aus dem Institut für angewandte medizinische Chemie in Innsbruck.]

(Eingegangen am 19. April 1915.)

Die vorliegende Veröffentlichung ist eine Fortsetzung unserer früheren Arbeiten über die hydrierten Cholesterine<sup>1)</sup>.

### I. Überführung von Koprosterin in Koprostan.

Durch die bisherigen Untersuchungen ist festgestellt worden, daß Koprosterin sicher verschieden ist von dem normalen Reduktionsprodukt des Cholesterins, dem  $\beta$ -Cholestanol, und daß diese Verschiedenheit nicht durch die sterische Anordnung der Hydroxylgruppe am hydrierten Ring bedingt ist, da auch die Ketone des Koprosterins und des  $\beta$ -Cholestanols sich von einander unterscheiden<sup>2)</sup>. Es wäre noch möglich gewesen, daß Koprosterin und  $\beta$ -Cholestanol dasselbe Kohlenstoffskelett besäßen und nur die Hydroxylgruppe des Kopro-

<sup>1)</sup> B. 46, 2487 [1913]; 47, 2384 [1914].

<sup>2)</sup> Dorée und Gardner, Soc. 93, 1630 [1908].