

Über das Cholesterin

(I. Mitteilung)

von

Hugo Schrötter.

Aus dem chemischen Institut der Universität Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 19. März 1903.)

Das Cholesterin ist schon vielfach studiert worden, doch ist über seine Konstitution eigentlich noch soviel wie nichts bekannt. Obwohl schon verschiedene Chemiker wie Walitzky,¹ Liebermann,² Weyl³ und Mauthner und Suida⁴ einen Zusammenhang mit den Terpenen und ringförmige Bindung im Cholesterinmolekül angenommen haben, waren das doch nur Vermutungen. Mauthner und Suida, die ihre sehr eingehenden Studien des Cholesterins und seiner Derivate in vier Abhandlungen⁵ niedergelegt haben, sagen zwar (l. c.), daß sich aus der Formel des Cholestan $C_{27}H_{48}$, respektive $C_{27}H_{46}$ eine ringförmige Bindung ergibt und dem Cholesterin entweder ein terpen-naphtenartiger Körper oder konjugierte Naphtene zu Grunde liegen, aber einen wirklichen Beweis für die ringförmige Struktur und eine Überführung in einen zweifellos aromatischen Körper bringen sie nicht. Auch die in der letzten Arbeit beschriebenen Oxydationsprodukte zeigten noch nicht die charakteristischen Eigenschaften der aromatischen Verbindungen. Es war deshalb nach meiner Ansicht ein Einblick in die

¹ Ber. der Deutschen chem. Ges., IX, 1310.

² Ebenda, XVIII, 1803.

³ Archiv für Anat. und Physiol., 1886, 182.

⁴ Monatshefte für Chemie, XV, 113.

⁵ Ebenda, XV, 85 und 363; XVII, 29 und 579.

Konstitution des Cholesterins erst dann zu erwarten, wenn es gelingt, von den etwaigen hydrierten Kernen die Hydrowasserstoffe abzuspalten und dann die entstandenen aromatischen Derivate zu untersuchen.

Baeyer und Villiger¹ haben nun gefunden, daß man in vielen Fällen durch erschöpfende Bromierung von Terpenen die Hydrowasserstoffatome als Bromwasserstoff abspalten und zur Feststellung des dem Terpen zu Grunde liegenden Kohlenstoffskelettes gelangen kann. Sie haben auf diese Weise durch Reduktion der Bromide die den Terpenen zu Grunde liegenden homologen Benzolkohlenwasserstoffe dargestellt. Ferner hat ebenfalls Baeyer in Gemeinschaft mit O. Seuffert² auch ein sauerstoffhaltiges Glied der Terpengruppe, das Menthon, erschöpfend bromiert und daraus ein gebromtes Dimethylcumaron neben einem gebromten Kresol erhalten.

Falls also dem Cholesterin eine terpenartige Struktur zu Grunde liegen sollte, war zu erwarten, daß es gelingen werde, durch erschöpfende Bromierung zu Derivaten von fettaromatischen Körpern zu gelangen.

Wie aus der folgenden Beschreibung meiner Versuche ersichtlich, scheint denn auch im großen und ganzen die Perbromierung in der Weise zu verlaufen und unter Bromwasserstoffabspaltung Bromide eines wasserstoffärmeren Körpers, den ich Dehydrocholesterin nennen will, zu entstehen.

Da wegen der Osterferien und der ziemlich zeitraubenden Neubeschaffung des Materials eine kleine Pause in der Untersuchung eintreten muß, erlaube ich mir, im folgenden den Verlauf der Reaktion wie auch die Trennung und Eigenschaften der Bromide und ihrer Reduktionsprodukte zu beschreiben, und behalte mir das weitere Studium derselben vor.

Das Cholesterin, für das ich die von Mauthner und Suida (l. c.) aufgestellte Formel $C_{27}H_{44}O$ akzeptiere, wurde aus menschlichen Gallensteinen durch Extraktion mit Alkohol

¹ Ber. der Deutschen chem. Gesellsch., XXXI, 1401, 2067, 2076 und XXXII, 2429.

² Ebenda, XXXIV, 40.

gewonnen. Die Gallensteine verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Prof. Dr. Klemensiewicz, dem ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Von Bromiden des Cholesterins sind nur wenige bekannt. Gut studiert ist das Dibromid $C_{27}H_{44}Br_2O$, das durch Addition von Brom in Schwefelkohlenstofflösung entsteht. Ferner sind noch einige bromierte Cholesterinderivate beschrieben. Höher bromierte Verbindungen sind meines Wissens nicht dargestellt.

Einwirkung von überschüssigem Brom auf trockenes Cholesterin.

Nach verschiedenen orientierenden Versuchen habe ich schließlich folgende Versuchsbedingungen eingehalten: 25 g in vacuo über Schwefelsäure getrocknetes, einmal umkristallisiertes Cholesterin wurde in einem großen Erlenmeyerkolben, der mit eingeschliffenem Glaspfropfen verschlossen war, mit Kältemischung gut gekühlt. In den Pfropf war ein Tropftrichter mit fein ausgezogenem Rohr und ein Gasentbindungsrohr eingeschmolzen, welches letzteres wieder mit zwei Chlorcalciumröhren verbunden war. Zu dem Cholesterin wurden nun langsam 200 g Brom zutropfen gelassen und zwar so, daß die ganze Menge Brom in zirka acht Stunden zugeflossen war. Eine starke Einwirkung war im Anfange nicht wahrnehmbar und das Cholesterin löste sich im überschüssigen Brom auf, doch bald fing die Lösung an zu schäumen und Bromwasserstoff entwich in Strömen. Es wurde dann vier Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, wobei stets Bromwasserstoff entwickelt wurde, und die dunkelrote Lösung dann in eine flache Glasschale gegossen und abermals zwei Tage stehen gelassen; das überschüssige Brom dunstete hierbei ab und der Schaleninhalt wurde hart. Das Reaktionsprodukt wurde dann in viel Äther aufgenommen, worin es sich recht schwer löste, und die ätherische Lösung mit Natronlauge und Wasser gut gewaschen. Die alkalische Lösung enthielt nur ganz geringe Mengen organischer Substanz, die nicht weiter untersucht wurde. Die ätherische Lösung wurde nun durch Destillation am Wasserbade eingeengt, wobei sich sehr bald ein Teil des Bromides als

dunkle Schmiere am Boden des Gefäßes abschied und von demselben immer abgossen werden mußte, da sonst starkes Stoßen und Überspritzen eintrat. Die schmierigen Fällungen wurden unter kaltem Äther hart und pulverig, konnten aber nicht abfiltriert werden, da sie feucht begierig Wasser anziehen und zerfließen. Im Kolben, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, gaben sie ein braunes Pulver, das leicht abzukratzen war und an der Luft sich nicht weiter veränderte. Nachdem etwa zwei Drittel des Äthers abdestilliert waren, wurde der Rest mit viel Alkohol versetzt, wobei eine hellgelbe pulverige Fällung eintrat, von der abgesaugt wurde. Die alkoholische Lösung wurde abermals auf ein Drittel abdestilliert und erkalten gelassen, worauf sich eine weitere Menge desselben Körpers abschied, und schließlich die Mutterlauge mit viel Wasser gefällt. Nun schied sich der Rest der Bromide als Öl ab, das allmählich erstarrte und abfiltriert werden konnte. Die Menge der so erhaltenen bromierten Produkte betrug zirka 66 g. Trotzdem die verschiedensten Lösungsmittel versucht und immer fraktioniert gefällt wurde, konnte eine gute Trennung nicht durchgeführt werden, die einzelnen Fraktionen konnten nie krystallisiert erhalten werden, sondern waren amorph oder höchstens mikrokrystallinisch und zeigten auch nie einen konstanten Schmelzpunkt, eigentlich überhaupt keinen Schmelzpunkt, sondern nur einen Zersetzungspunkt, der sich durch Schäumen und Blasenentwicklung kenntlich machte. Durch öftere Wiederholung der soeben beschriebenen Trennungsmethode, die sich noch als die beste bewährte, erhielt ich schließlich drei Hauptfraktionen, die sich folgendermaßen verhielten:

Fraktion *a*, braunes Pulver, leicht löslich in Chloroform, Benzol, Aceton, schwer in Äther, unlöslich in Alkohol, Zersetzungspunkt 150 bis 160°, amorph, Gewicht 40 g;

Fraktion *b*, leicht löslich in Chloroform, Benzol, Aceton, auch in Äther, unlöslich in Alkohol, Zersetzungspunkt 140°, mikrokrystallinisch, 20 g.

Fraktion *c*, auch löslich in Alkohol, daraus mit Wasser gefällt, Schmelzpunkt 112 bis 114°, mikrokrystallinisch, 6 g.

Bei der Analyse dieser Fraktionen erhielt ich folgende Zahlen:

a) (Schließlich noch zweimal aus siedendem Amylalkohol umkrystallisiert, Schmelzpunkt 140 bis 145°.) In Prozenten:

	Berechnet für $C_{27}H_{23}Br_3O$	
C	29·93	29·9
H	2·25	2·1
Br	66·7	66·5
O	1·08	1·6

b) (Dreimal in Äther gelöst und mit Alkohol gefällt, Schmelzpunkt 145°):

	Berechnet für $C_{27}H_{25}Br_3O$	
C	29·62	29·9
H	2·44	2·1
Br	66·8	66·5
O	1·14	1·6

c) (Einigemal in Alkohol gelöst und mit Wasser gefällt, Schmelzpunkt 112°):

	Berechnet für $C_{27}H_{26}Br_6O$	
C	37·5	38·1
H	2·76	3·08
Br	57·2	56·7
O	2·46	2·12

Da Fraktion *a* und *b* übereinstimmende Analysenzahlen gaben, waren also hauptsächlich zwei Bromide entstanden, die am besten auf das Nono-, respektive Hexabromid eines Dehydrocholesterins von der Formel $C_{27}H_{32}O$ stimmen, das durch Abspaltung von zwölf Wasserstoffatomen als BrH aus dem Cholesterin entstanden ist.

Zur weiteren Untersuchung wollte ich nun dies Bromid mittelst nascenten Wasserstoffs in das Dehydrocholesterin selbst überführen; es scheint aber das Brom in demselben so fest gebunden zu sein, daß es mir trotz vielfacher Variierung der Versuchsbedingungen, die mit sehr viel Materialverlust verbunden waren, nicht gelungen ist, zu einen bromfreien Körper

zu gelangen. Das Nono- und Hexabromid verhielten sich bei der Reduktion vollkommen gleich. Ob ich nun Natriumamalgam in wässriger oder alkoholischer Lösung oder Natrium und Alkohol oder Eisessig und Zinkstaub, Eisessig und Eisenpulver als Reduktionsmittel verwendete, erhielt ich immer einesteils einen dunkelbraunen, amorphen, bromhaltigen Körper, der schwer in Äther, leicht in Benzol löslich war, noch nicht bei 250° schmolz, wahrscheinlich höher kondensiert war und, da ich ihn nicht reinigen konnte, nicht weiter untersucht wurde, andernteils neben unverändertem Bromid (Schmelzpunkt 150°) einen in Alkohol leicht, in Wasser unlöslichen, unter dem Mikroskop teils amorph, teils krystallinisch aussehendes Bromid, das bei 62 bis 64° unscharf schmolz. Die Ausbeuten waren in allen Fällen sehr schlecht. Die besten Ausbeuten an dem niedrig schmelzenden Körper erhielt ich schließlich auf folgende Weise: 5 g Bromid wurden mit 300 cm^3 starkem Alkohol verrieben, 100 cm^3 Eisessig zugesetzt, auf kochendem Wasserbade portionenweise 20 g Eisenpulver zugefügt und durch zehn Stunden erhitzt, dann in Wasser gegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Der gut gewaschene Äther wurde größtenteils abdestilliert, der Rückstand in Benzol aufgenommen, mittels Petroläthers der hochschmelzende Körper abgeschieden, abdestilliert, mit Alkohol versetzt, wobei sich unverändertes Bromid abschied, die alkoholische Lösung stark eingengt, filtriert und mit Wasser gefällt. Dabei scheidet sich nun das niedrig schmelzende Bromid besonders leicht bei Zusatz einer geringen Menge von Kochsalz als langsam erstarrendes Öl ab, das abfiltriert und gewaschen wurde. Die Ausbeute war etwas über 1 g. Das durch zweimaliges Umfällen gereinigte Bromid sintert bei 58° , schmilzt bei 62 bis 64° und gab bei der Analyse folgende Zahlen:

	Berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{O}$
C	$60\cdot38$
H	$6\cdot07$
Br	$31\cdot5$
O	$3\cdot05$
	$60\cdot1$
	$5\cdot66$
	$30\cdot1$
	$4\cdot14$

Wie ersichtlich, stimmen die Zahlen am besten auf ein Dehydrocholesterindibromid. Die Differenzen mit den berechneten Werten sind jedenfalls auf eine geringe Verunreinigung mit unverändertem Bromid zurückzuführen.

Mit den mir aus den verschiedenen Reduktionsversuchen zur Verfügung stehenden Mengen des Dibromids wurde noch das Verhalten gegen starke Salpetersäure untersucht. Die Salpetersäure wirkt hiebei nitrierend und oxydierend. Beim Übergießen des Bromids mit starker Salpetersäure tritt Erwärmung ein und unter Schäumen und Entwicklung roter Dämpfe geht dasselbe langsam in Lösung. Die Einwirkung ist durch längeres Erwärmen auf dem Wasserbade zu beenden. Als die salpetersaure Lösung in viel Wasser gegossen wurde, scheidet sich das Nitroprodukt in gelben Flocken ab, die abfiltriert und gut gewaschen wurden. Leider konnte auch der Nitrokörper nie krystallisiert erhalten, ja nicht einmal gut gereinigt werden. Er war in Äther, Benzol, Chloroform u. dgl., auch in Alkohol, ferner in Lauge und in Soda leicht löslich, unlöslich in Wasser. In einigen Tropfen Ammoniak gelöst und mit einer Lösung von salpetersaurem Silber oder salpetersaurem Baryum versetzt, entstand ein unlösliches Silber-, respektive Barytsalz, die aber amorph, dunkelbraun und nicht umzukrystallisieren waren. Mit viel Verlusten, aber scheinbar doch noch am besten zu reinigen war er, wenn man ihn in absolutem Alkohol löste und mit Petroläther fällte, wobei aber noch viel in Lösung blieb.

Der auf diese Weise gereinigte Körper zeigte einen Zersetzungspunkt von 198° (unscharf) und gab, in vacuo bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, folgende Zahlen:

	Berechnet für
	$\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{Br}_2(\text{NO}_2)_3\text{O}_6$
C	43·99
H	2·92
N	5·60
Br	21·14
O	26·35
	43·84
	2·84
	5·68
	21·65
	25·99

Es hat sich also durch die Einwirkung der Salpetersäure eine dreifach nitrierte Säure gebildet. Zu einem weiteren Studium dieser Verbindung reichte die Menge nicht.

Folgende kleine Zusammenstellung möge die von mir erhaltenen Produkte der Einwirkung von überschüssigem Brom auf Cholesterin veranschaulichen:

Cholesterin $C_{27}H_{44}O$ unter Abspaltung von 12 H.

Nonobromid des Dehydrocholesterin	$C_{27}H_{23}Br_9O$
Hexabromid »	$C_{27}H_{26}Br_6O$
Dibromid »	$C_{27}H_{30}Br_2O$
Nitrierte Säure	$C_{27}H_{21}Br_2N_3O_{12}$

Ich möchte dabei nur noch bemerken, daß ich bei den geringen Differenzen, die zwei Wasserstoffe mehr oder weniger in den Prozentzahlen geben, eine Änderung der Zahl 12 der abgespaltenen Wasserstoffatome bei weiterem Studium für leicht möglich halte.

Schlüsse aus diesen Resultaten auf die Konstitution des Cholesterins zu ziehen, behalte ich mir für später vor.

Schließlich möchte ich nur noch folgendes hinzufügen. Es wurde zwar schon von einigen Chemikern darauf hingewiesen, daß das Cholesterin wahrscheinlich den Gallensäuren chemisch nahe stehe, irgend ein Beweis für diese Behauptung wurde aber nicht erbracht.

Wenn man nun die Formeln des Cholesterins und der Cholalsäure, respektive der ihnen zu Grunde liegenden gesättigten Kohlenwasserstoffe betrachtet, kommt man zu folgendem Schluß: Das Cholesterin $C_{27}H_{44}O$ addiert leicht zwei Brom, enthält also eine Äthylenbindung; es entspricht ihm also der gesättigte Kohlenwasserstoff $C_{27}H_{46}$. Der Cholalsäure $C_{24}H_{40}O_5$ entspricht als einer einbasischen Säure der Kohlenwasserstoff $C_{24}H_{42}$.

Differenz C_3H_4 .

Das wäre also eine mit zwei Kohlenstoffen gebundene Propangruppe oder ein Propan, das als Brücke zwischen zwei Kohlenstoffatomen eines Kohlenwasserstoffes gelagert wäre, wie man es bei einigen Terpenen z. B. beim Kampfer an-

nimmt. Das Vorhandensein einer Propangruppe in einem Produkte des tierischen Stoffwechsels ist ja sehr plausibel und ich erinnere dabei nur an das Tyrosin. Ich habe mich mit dem Herrn Privatdozenten Dr. F. Pregl, der sich schon längere Zeit mit der Cholalsäure beschäftigt, zum Zwecke des gemeinsamen Studiums derselben in der soeben beim Cholesterin angegebenen Weise verbunden. Die ersten orientierenden Versuche scheinen auch unsere Voraussetzungen zu bestätigen und wir hoffen, bald darüber berichten zu können, und möchten nur die Bitte aussprechen, uns diese Untersuchung zu reservieren.
