

und das Rohprodukt aus Alkohol umkristallisiert. Die Nadeln (400 mg) schmolzen bei 140—143°<sup>1)</sup>. Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal aus Alkohol umkristallisiert und vor dem Verbrennen im Vakuum geschmolzen.

3,666 mg Subst. gaben 9,904 mg CO<sub>2</sub> und 3,189 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 73,80 H 9,81%

Gef. „ 73,72 „ 9,73%

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +66,8° (c = 0,494 in Feinsprit)

Bei der alkalischen Verseifung des Methylesters wurde die bereits oben beschriebene Ketosäure (V) vom Smp. 252—254° erhalten.

γ'-[3β-Acetoxy-äthio-allo-cholanyl-(17)]-Δ<sup>5</sup>-β'-butenolid (VII).

310 mg der gesättigten Ketosäure (V) wurden wie die Säure (III) lactonisiert. Das Rohprodukt wurde viermal aus Methanol umkristallisiert und zur Analyse im Hochvakuum bei 170° sublimiert. Smp. 195—197°.

3,786 mg Subst. gaben 10,399 mg CO<sub>2</sub> und 3,080 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 74,96 H 9,06%

Gef. „ 74,96 „ 9,10%

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +31,1° (c = 0,467 in Feinsprit)

Die Ozonisation des Lactons (VII) lieferte nur saure Bestandteile, die jedoch auch nach Reacetylierung und Veresterung mit Diazomethan nicht zur Krystallisation gebracht werden konnten.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

### 38. Recherches sur l'ozonation du cholestérol

par M. Berenstein, A. Georg et E. Briner.

(27 XII 45)

A la suite des travaux de *Harries* relatifs à l'action de l'ozone sur des corps organiques non saturés, plusieurs expérimentateurs ont eu recours à ce gaz en vue de reconnaître la présence de doubles liaisons dans le cholestérol et d'en déterminer le nombre. Les résultats auxquels ils sont parvenus marquant des différences assez grandes, il nous a paru intéressant et utile de reprendre l'étude de ce sujet, bien que, depuis lors, on ait établi — par des méthodes autres que l'ozonation — que la molécule de cholestérol comporte une seule double liaison. Ainsi le but principal de nos recherches a été d'élucider les causes des divergences auxquelles il vient d'être fait allusion et de préciser les conditions expérimentales qui conduisent à la production d'un ozonide normal.

<sup>1)</sup> Zeigt mit IIIb, das einen ähnlichen Schmelzpunkt besitzt, eine starke Schmelzpunkterniedrigung.

Avant d'exposer les résultats essentiels de nos recherches, il n'est pas superflu de donner un résumé sommaire des travaux effectués précédemment dans l'étude de cette question<sup>1)</sup>.

Les premiers résultats d'études sur l'ozonation du cholestérol ont été communiqués en 1908. Ce sont, dans l'ordre chronologique, ceux de *Dorée et Gardner*, de *Langheld*, de *Diels* et de *Molinari et Fenaroli*. *Dorée et Gardner*<sup>2)</sup>, opérant l'ozonation dans le chloroforme, notent la fixation d'une molécule d'ozone par molécule de cholestérol, alors que *Langheld*<sup>3)</sup>, se servant aussi du chloroforme comme dissolvant, conclut à l'addition d'au moins deux molécules d'ozone sur celle de cholestérol. Utilisant ce même dissolvant, *Diels*<sup>4)</sup> obtient un produit correspondant d'abord à une addition de 5 atomes d'oxygène sur la molécule de cholestérol; mais une purification du produit réduit le taux de fixation à 4. *Molinari et Fenaroli*<sup>5)</sup> ont opéré avec un ozone relativement peu concentré (à 1%). Pour établir le taux de fixation des atomes d'oxygène, ils ont eu recours soit à l'analyse élémentaire du produit obtenu, soit à la pesée de la substance avant et après ozonation. Par la première méthode, ils obtiennent un taux de fixation de 7 et par la seconde de 6. Ils en déduisent la présence de deux doubles liaisons dans la molécule de cholestérol. En reprenant, sur des dérivés du cholestérol, l'étude du problème, *Dorée*<sup>6)</sup> est conduit à admettre, d'accord avec *Molinari et Fenaroli*, que le cholestérol réagit vis-à-vis de l'ozone comme s'il possédait deux doubles liaisons. Toutefois, il envisage aussi la possibilité que l'ozonation, après fixation d'une première molécule d'ozone, produise une modification dans la structure de la molécule de cholestérol permettant la fixation d'une deuxième molécule d'ozone.

Dans ses recherches avec *Seitz, Harries*<sup>7)</sup> remplace, comme dissolvant, le chloroforme — auquel il reproche, avec justesse d'ailleurs, certains défauts pour l'ozonation — par l'hexane ou par le tétrachlorure de carbone. L'ozonation dans l'hexane a fourni à ces expérimentateurs un corps très peu soluble, dont l'analyse élémentaire correspond à la fixation d'une molécule d'ozone. En revanche, l'ozonation dans le tétrachlorure leur a donné, après précipitation par l'éther de pétrole, un corps dont la composition répondrait à la fixation de 5 atomes d'oxygène. Pour interpréter ce dernier fait, *Harries* est d'avis que, pendant l'ozonation, il se produirait un processus de déshydratation, avec départ d'une molécule H<sub>2</sub>O du groupe —CH<sub>2</sub>—CHOH— du cholestérol, et formation de cholestérylène (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>), dont la seconde double liaison serait saturée à son tour par l'ozone.

Bien que les travaux de *Furth* et de *Felsenreich*<sup>8)</sup> aient été publiés en 1915, ces auteurs ont employé les mêmes procédés que *Molinari*, mais ont opéré avec un ozone à une concentration de 8—9%. Les essais ont porté sur le cholestérol, le dihydro-cholestérol et le β-cholécstane. Suivant la durée de l'ozonation, ils enregistrent des taux de fixation de 4,5 à 12 atomes d'oxygène pour le cholestérol, de 5,4 à 12,9 atomes pour le dihydro-cholestérol, et de 4,5 à 14,4 atomes pour le β-cholécstane. Ces constatations les amènent à contester les conclusions de *Molinari* et de *Fenaroli*, selon lesquelles l'ozone est le réactif le plus approprié à la mise en évidence de doubles liaisons, attendu que le β-cholécstane, dont la molécule ne comporte pas de double liaison, est capable, malgré cela, de fixer jusqu'à 14—15 atomes d'oxygène.

<sup>1)</sup> On trouvera une bibliographie plus détaillée, avec commentaires critiques, dans la thèse de *M. Berenstein*, Genève 1944.

<sup>2)</sup> Soc. **93**, 1331 (1908).

<sup>3)</sup> B. **41**, 1023 (1908).

<sup>4)</sup> B. **41**, 2596 (1908).

<sup>5)</sup> B. **41**, 2785 (1908). Dans cette publication, *Molinari* relate qu'en 1905, en collaboration avec *Bono*, et en se servant d'éther comme dissolvant, il a enregistré des fixations, sur la molécule de cholestérol, de 4 atomes d'oxygène, et de 3 sur celle d'acétate de cholestérol. <sup>6)</sup> Soc. **95**, 638 (1909).

<sup>7)</sup> B. **45**, 936 (1912).

<sup>8)</sup> Bioch. Z. **69**, 417 (1915).

Enfin, en 1916, *Dorée*<sup>1)</sup> revient à nouveau sur l'étude de la question. Avec son collaborateur *Orange*, il opère sur le cholestérol en suspension dans l'acide acétique glacial<sup>2)</sup>. Faisant crâance à la théorie de l'oxozone de *Harries*, encore en honneur à cette époque, ils font passer le courant d'ozone dans une solution de soude caustique, en vue de la débarrasser de l'oxozone ( $O_4$ )<sup>3)</sup>. Suivant les conditions de leurs expériences: ozonation poussée ou ozonation limitée, ils obtiennent des produits correspondant à des additions de 6—7 ou de 3—4 atomes d'oxygène par molécule de cholestérol. Ces constatations les portent à conclure à l'existence d'une seule double liaison originale et à expliquer la formation d'un di-ozonide par l'ouverture d'un des cycles, selon le processus déjà envisagé par *Dorée* (voir plus haut).

Comme on le voit d'après cette brève bibliographie, les résultats obtenus sont loin de concorder, non seulement d'un auteur à l'autre, mais aussi pour un même auteur. On comprend dès lors que *Windaus* ait pu écrire, en 1925, dans *Abderhalden's Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*<sup>4)</sup>, que l'ozonation donne des résultats trop incertains pour qu'on en puisse déduire le nombre de doubles liaisons de la molécule de cholestérol.

Dans notre étude visant à apporter des éclaircissements au problème, nous avons pu bénéficier de l'expérience acquise au Laboratoire de Chimie technique et théorique de Genève dans la pratique de l'ozonation. Nous avons notamment eu recours à la méthode de l'ozonation quantitative mise au point dans ce laboratoire. Cette méthode permet, comme il a été précisé dans différents mémoires issus de ce laboratoire, de contrôler les quantités d'ozone absorbées, au fur et à mesure de l'avancement de l'opération. De cette façon, il n'est pas nécessaire, comme l'ont fait la plupart de nos devanciers, de pousser à fond l'ozonation, avec tous les risques d'altération de la molécule par une oxydation excessive que comporte une telle pratique. Il ne faut pas oublier notamment que l'ozone est un réactif d'oxydation très énergique, surtout lorsqu'il est concentré. De fait, des suroxydations marquées ont été maintes fois constatées dans les recherches effectuées sur l'ozonation dans ce laboratoire.

Dans le présent travail, nous avons encore amélioré l'application de cette méthode en procédant à des ozonations par étapes successives, avec représentation graphique des proportions d'ozone consommées (courbes d'ozonation)<sup>5)</sup>.

Comme premier point important, nous avons relevé que, dans un dissolvant où le produit d'ozonation est soluble — c'est le cas

<sup>1)</sup> Soc. 109, 46 (1916).

<sup>2)</sup> Dans ce dissolvant, l'ozonide est soluble, alors que le cholestérol l'est très peu.

<sup>3)</sup> Or, sur ce dernier point, il faut rappeler que les travaux récents ont établi d'une façon irréfutable qu'un corps tel que l'oxozone n'existe pas (*S. Karrer* et *O. R. Wulf*, Am. Soc. 44, 2391 (1922); *Briner* et *Biedermann*, Helv. 16, 213 (1933); *Lainé*, Ann. physique [11] 3, 554 (1935)). La diminution de concentration en oxygène actif après le passage du gaz ozoné dans la soude caustique provient tout simplement de ce qu'une partie de l'ozone est détruite, et non pas de l'enlèvement de l'oxozone.

<sup>4)</sup> Abt. 1, Tl. 6; 172.

<sup>5)</sup> Voir quelques-uns de ces graphiques plus loin, dans la partie expérimentale.

dans  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$ , etc. — la consommation d'ozone ne s'arrête nullement après l'étape correspondant à une fixation d'une ou deux molécules d'ozone, mais qu'elle continue toujours, plus ou moins ralenti. Il ne s'agit pas là d'une consommation d'ozone due seulement à l'attaque du dissolvant, car ce fait s'est produit aussi pour les solutions de cholestérol dans le tétrachlorure de carbone, liquide qui reste à peu près inaltéré s'il est purifié d'une manière appropriée. Toutefois, en opérant soit sur le cholestérol, soit sur son acétate, la consommation de l'ozone marque des ralentissements visibles sur les graphiques après l'absorption d'une molécule d'ozone. Il s'est donc bien produit un ozonide que l'on peut désigner du nom d'ozonide normal, puisqu'il répond à la saturation par l'ozone de la double liaison du cholestérol. D'ailleurs, en procédant à une ozonation ménagée du cholestérol dans ce dissolvant, nous avons pu préparer et isoler un ozonide dont l'analyse élémentaire confirme bien ce résultat. Mais la continuation de l'absorption de l'ozone lorsqu'on prolonge la durée de l'opération prouve bien que des processus d'oxydation interviennent après ou même pendant l'ozonation proprement dite; ces processus expliquent les taux de fixation d'oxygène supérieurs auxquels sont parvenus plusieurs des expérimentateurs qui se sont occupés de cette question avant nous.

Dans ce même ordre d'idées, la comparaison des courbes d'ozonation nous a permis de tirer des renseignements intéressants sur la nature de ces processus d'oxydation. C'est ainsi qu'en comparant les courbes d'ozonation, dans le tétrachlorure de carbone, du cholestérol et de son acétate, dans des conditions identiques, on constate qu'elles se superposent presque complètement si l'ozonation a été effectuée avec un ozone dilué (0,5 %) alors que, avec un ozone plus concentré (1,7 %), l'absorption d'ozone, après formation de l'ozonide normal, est, dans le cas du cholestérol, environ du double de ce qu'elle est dans celui de son acétate. On peut en conclure que l'ozone, à l'état plus concentré, porte son action d'oxydation ultérieure de préférence sur le groupe hydroxyle secondaire du cholestérol; ce fait trouve son analogue par exemple dans l'oxydation du bornéol en camphre.

Mais c'est en nous servant d'hexane comme dissolvant que nous avons obtenu les résultats les plus satisfaisants. Ce dissolvant est, il est vrai, fortement attaqué par l'ozone. Mais comme l'ozonide de cholestérol est beaucoup moins soluble dans l'hexane que le cholestérol — qui l'est très peu — il précipite et échappe ainsi aux oxydations ultérieures. L'analyse élémentaire du produit ainsi préparé indique bien que l'on est en présence d'un ozonide normal.

L'ozonide normal de cholestérol se présente sous forme d'une masse blanche homogène, fondant à 115–118°, alors que les produits obtenus par des ozonations prolongées ne sont pas homogènes

et fondent plus bas ( $85-95^{\circ}$ ). Outre le résultat des analyses signalées plus haut, la pureté de l'ozonide est attestée encore par l'absence des réactions caractérisant la double liaison (coloration jaune avec le tétranitrométhane) ou le cholestérol (réaction de *Liebermann-Burchard*). Le chromatogramme de l'ozonide normal présente, à la lumière de *Wood*, une zone de fluorescence unique rouge brique, tandis que les chromatogrammes des produits suroxydés donnent lieu à quatre zones de fluorescence différentes, ce qui témoigne de leur hétérogénéité.

La formation de l'ozonide de cholestérol se distingue de celle de beaucoup d'autres ozonides par sa lenteur, qui fait que l'ozone n'est que partiellement absorbé, même au début de l'ozonation. Or on sait que les ozonations des composés à double liaison éthylénique, comme celle de l'anéthol par exemple, que nous avons pris comme base de comparaison en opérant dans les mêmes conditions, sont caractérisées par une absorption totale de l'ozone se poursuivant presque jusqu'à la fin de l'ozonation. En revanche, l'ozonide de cholestérol fait montre d'une certaine stabilité: après deux mois, l'analyse d'un échantillon n'a révélé aucune décomposition, alors que de nombreux autres ozonides étudiés dans ce laboratoire<sup>1)</sup> sont le siège de processus de destruction<sup>2)</sup> donnant lieu au dégagement de divers gaz ( $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $CO_2$ ,  $CO$ ).

La stabilité de l'ozonide apparaît aussi dans la lenteur de l'attaque de l'ozonide par l'iodure de potassium. Les quantités d'oxygène actif déterminées ainsi par l'iode mis en liberté sont en effet toujours bien inférieures à celles qui correspondent à l'ozonide normal, contrairement à ce qui se passe pour d'autres ozonides<sup>3)</sup>.

Les autres méthodes de scission<sup>4)</sup> réductrice que nous avons employées: par le nickel-*Raney* ou par l'hydrogénosulfite de sodium, n'ont pas non plus donné des résultats nets pour la recherche de la nature des produits de la scission. Mentionnons pourtant que l'on a obtenu une semicarbazone bien cristallisée, de point de fusion  $236^{\circ}$ , du produit de scission par l'hydrogénosulfite de sodium; mal-

<sup>1)</sup> Notamment l'ozonide de butylène et d'isobutylène (*E. Briner et R. Meier*, *Helv.* **12**, 529 (1929)), de l'acide oléique (*E. Briner, C. Denzler et H. Paillard*, *ibid.* **16**, 800 (1933)), du crotonate d'éthyle (*E. Briner et D. Franck*, *ibid.* **22**, 587 (1939)). *M. Stoll et A. Rouvé* (*Helv.* **27**, 950 (1944)) signalent des dégagements de gaz par les produits d'ozonolyse réductrice (au moyen de l'hydrogène en présence de palladium) des ozonides qu'ils ont étudiés dans leur travail.

<sup>2)</sup> Sur l'interprétation des processus de destruction et de scission des ozonides, voir *E. Briner*, *Helv.* **22**, 591 (1939).

<sup>3)</sup> Par exemple pour l'ozonide d'anéthol (*E. Briner et S. de Nemitz*, *Helv.* **21**, 748 (1938)).

<sup>4)</sup> Nous utilisons ce terme de préférence à ozonolyse, car il marque mieux que le processus qu'il désigne est une coupure, s'effectuant sur la double liaison saturée par la molécule d'ozone.

heureusement, les quantités de ce corps ont été trop faibles pour se prêter à une étude.

Quant aux essais de scission au moyen de l'eau chaude, à la pression ordinaire ou sous pression, qui pour d'autres ozonides ont abouti à des indications utiles<sup>1)</sup>, par l'analyse de l'aldéhydité et de l'acidité produites, ils n'ont pas non plus fourni de données utilisables.

Ainsi, comme résultats essentiels de cette étude, nous avons obtenu, dans les conditions appropriées aux dissolvants utilisés, un ozonide normal de cholestérol et de son acétate, conformément à ce que l'on pouvait attendre de la formule de constitution établie pour ces corps. De plus, nous avons pu élucider la raison des résultats divergents obtenus par les expérimentateurs précédents.

On trouvera dans la partie expérimentale une description sommaire des méthodes qui ont été mises en œuvre, et l'exposé des principaux résultats signalés plus haut, ainsi que quelques autres de moindre importance.

### Partie expérimentale.

#### *Méthode de travail.*

La méthode d'ozonation quantitative, pour en rappeler le principe<sup>2)</sup>, consiste à diviser le courant d'oxygène ozoné sortant de l'effluveur en deux courants partiels: l'un de ces courants passe dans un flacon barboteur contenant le liquide ou la solution du corps à ozoner, l'autre circule dans un flacon barboteur contenant une solution d'iodure de potassium, destinée à l'analyse de l'ozone. Des mesures préliminaires, faites en plaçant sur le premier circuit également un flacon barboteur avec de l'iodure de potassium, donnent le rapport d'ozone passant dans les deux circuits pour des conditions bien déterminées. Ainsi, en reproduisant ces conditions dans les expériences proprement dites, on sait, par l'analyse de l'iode libéré dans le second circuit, la quantité d'ozone ayant circulé dans le liquide à ozoner.

De plus, comme on a installé après le flacon contenant le liquide à ozoner un autre flacon barboteur renfermant une solution d'iodure de potassium, on connaîtra, par l'iode libéré dans ce dernier flacon, la fraction de l'ozone non absorbé par la substance.

Cette méthode a été améliorée dans son application en procédant par étapes successives, après chacune desquelles on change les flacons barboteurs à iodure de potassium dans les deux circuits. L'analyse de l'iode libéré après chaque étape renseigne sur le rapport de la quantité d'ozone absorbé à celle qui a circulé dans le liquide à ozoner. En portant ces résultats sur un graphique, on est renseigné exactement sur la marche de l'ozonation<sup>3)</sup>.

#### *Conditions expérimentales.*

Dans les expériences d'ozonation effectuées, nous avons fait varier: la substance à ozoner: cholestérol ou acétate de cholestérol; le dissolvant: hexane, tétrachlorure de carbone ou chloroforme; la concentration de la substance à ozoner et sa quantité; la concentration de l'ozone; la durée de l'ozonation; la température d'ozonation et la lumière.

<sup>1)</sup> Par exemple dans le cas des ozonides de l'anéthol et de l'estragol (*E. Briner et S. de Nemitz, loc. cit.*).

<sup>2)</sup> Elle a été décrite à plusieurs reprises dans des mémoires antérieurs issus de ce laboratoire et portant sur l'ozonation, ainsi que dans la thèse de *M. Berenstein, loc. cit.*

<sup>3)</sup> Voir plus loin des exemples d'application de cette méthode à l'ozonation du cholestérol.

Le cholestérol provenait de la maison *F. Hoffmann-La Roche & Cie.* à Bâle, p. de f. 147,5°;  $[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$  (éther).

L'acétate de cholestérol a été préparé par nous selon trois méthodes différentes: La méthode de *Page et Pierrard*<sup>1)</sup> ne nous a fourni qu'un faible rendement. La méthode de *Noyons*<sup>2)</sup> nous a donné un rendement d'environ 80% en acétate pur, p. de f. 114°. Le meilleur rendement (90—95% de la théorie) et le produit le plus pur ont été obtenus en appliquant au cholestérol la méthode d'acétylation par l'anhydride acétique en présence de pyridine, à une température peu élevée<sup>3)</sup>. Le produit a été recristallisé dans l'alcool absolu chaud; p. de f. 114°.

*L'hexane.* Ce dissolvant est fortement attaqué par l'ozone<sup>4)</sup>. On verra plus loin pour quelle raison son emploi est motivé pour la préparation d'un ozonide normal de cholestérol. L'hexane utilisé comme dissolvant a été redistillé deux fois. La fraction employée passait à environ 67°. Elle a été conservée sur le sodium métallique. Le tétrachlorure de carbone a été purifié en y faisant passer un courant d'ozone à 3% pendant plusieurs heures en présence d'eau. Il a été ensuite lavé successivement par une solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et par l'eau distillée, séché sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , redistillé deux fois et conservé sur  $\text{CaCl}_2$  anhydre. Ainsi purifié, le tétrachlorure n'est pratiquement pas altéré par l'ozone aux concentrations auxquelles nous avons utilisé ce gaz; ce qui n'est pas le cas pour un tétrachlorure impur, dans lequel il se forme des quantités appréciables de  $\text{HCl}$ . Le chloroforme a été lavé à l'eau distillée, séché sur le sulfate de magnésium et distillé deux fois. (L'action de l'ozone sur ce dissolvant donne lieu à la formation d'acide chlorhydrique et de phosgène).

La quantité de substance ozonée en une opération a été, dans la plupart des expériences, de 3 millimoles (1,158 gr. de cholestérol, 1,248 gr. d'acétate). Dans quelques expériences, faites avec le cholestérol, elle a été portée à 5,6 ou 8 millimoles.

La concentration de la substance à ozonier, en gr./100 cm<sup>3</sup> a varié avec le dissolvant employé. Pour le cholestérol, elle a été, dans l'hexane, d'environ 1% (concentration voisine de la saturation à température ordinaire); dans le  $\text{CCl}_4$  et le  $\text{CHCl}_3$ , généralement de 4%, occasionnellement jusqu'à 6 et même 8%. Pour l'acétate, la concentration a été de 4 à 5% dans le  $\text{CCl}_4$  et de 2,5 à 3% dans l'hexane.

Pour la concentration en ozone, nous nous sommes arrêtés à deux concentrations types (en vol./100 cm<sup>3</sup>) 1,7% et 0,5%. Le débit d'oxygène ozoné a été le même dans toutes nos expériences: 10 l/h.

La durée d'ozonation a varié avec la quantité de produit à ozonier et selon le but à atteindre. Dans les expériences où il s'agissait d'obtenir un ozonide normal, l'opération a été arrêtée généralement lorsque la consommation d'ozone correspondait à 1 molécule pour 1 molécule de produit à ozonier, ou même auparavant<sup>5)</sup>; dans les expériences où il s'agissait de déterminer l'absorption maximum d'ozone par la substance à examiner, elle a été poussée jusqu'au moment où le rapport ozone absorbé/ozone ayant circulé devenait approximativement constant.

<sup>1)</sup> Bl. Soc. chim. biol. **21**, 337 (1939).

<sup>2)</sup> Bioch. Z. **298**, 391 (1938).

<sup>3)</sup> Pour plus de détails, voir thèse *M. Berenstein*.

<sup>4)</sup> Voir notamment les recherches de *Blair* et ses collaborateurs, J. Soc. Chem. Ind. **43**, 2891 (1923), et celles faites dans ce laboratoire, thèse *E. Niewiazska*, Genève (1937). Le cyclohexane, qui est moins attaqué par l'ozone que l'hexane, a également été essayé comme dissolvant. Mais nous avons dû renoncer à son emploi, attendu que ses produits d'oxydation sont solides, contrairement à ceux de l'hexane, et de ce fait difficilement séparables des ozonides à étudier.

<sup>5)</sup> Cependant dans le cas du cholestérol ozoné dans l'hexane, un ozonide normal peut aussi être obtenu lors d'une ozonation plus prolongée, vu que l'ozonide formé, insoluble dans le milieu ambiant, échappe pour la plus grande partie à l'action ultérieure de l'ozone.

La température d'ozonation a généralement été celle du laboratoire (environ +20°). Quelques expériences ont été faites à température plus basse (0 à +5°). Les résultats obtenus n'ont pas été influencés, dans les limites de la précision expérimentale, par ces variations de température.

Quelques ozonations ont été effectuées à l'obscurité (flacon d'ozonation enveloppé d'un papier noir), les autres à la lumière du jour. Aucune variation des résultats n'a été observée de ce fait.

*Ozonation dans  $CCl_4$  à 1,7% de concentration en ozone.*

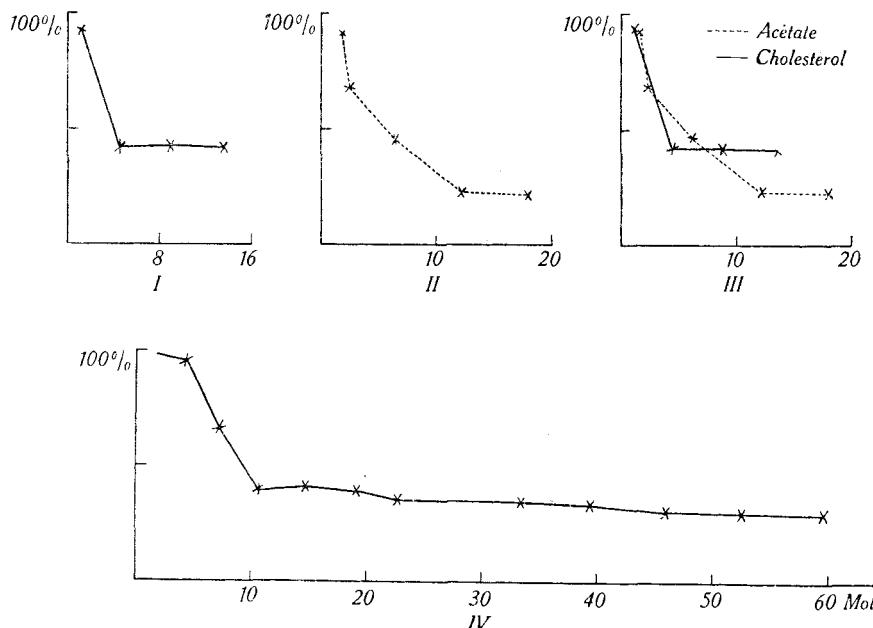


Fig. 1.

*Ozonation à 0,5% de concentration en ozone.*

Chol. $CCl_4$	Acét. chol. $CCl_4$	Chol. et acét. $CCl_4$	Chol. hexane	Chol. hex. Chol. $CCl_4$
------------------	------------------------	---------------------------	-----------------	-----------------------------

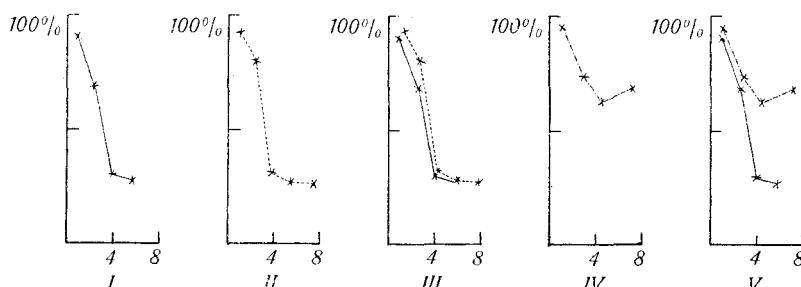


Fig. 2.

*Description de quelques ozonations-types.*

Les graphiques des fig. 1 et 2 traduisent en courbes les résultats des mesures<sup>1)</sup>.

La quantité de la substance ozonée a été de 8 m-moles pour la courbe IV, fig. 1; pour toutes les autres courbes, la quantité de la substance ozonée a été de 3 m-moles.

On a porté en abscisses le nombre de m-moles d'ozone ayant traversé la solution à ozoner et en ordonnées la proportion moyenne, exprimée en %, de l'ozone consommé par rapport à l'ozone ayant circulé, ceci entre deux dosages successifs. Les points reliés par la courbe marquent les étapes successives d'une opération.

*Interprétation.* Tous ces graphiques montrent la forte consommation (90% et plus) de l'ozone au début. Lorsque cette consommation atteint et dépasse la quantité théorique requise pour la saturation de la double liaison, on enregistre une baisse très marquée. Mais ensuite cette consommation se poursuit d'une manière continue en s'affaiblissant de très peu, comme le montrent les graphiques I et IV de la fig. 1. Ce fait atteste les actions oxydantes que subit la molécule de cholestérol après l'ozonation proprement dite.

Pour l'acétate de cholestérol, la baisse de consommation de l'ozone est encore plus accentuée avec l'ozone à 1,7% (II et III de la fig. 1). On peut en déduire que le cholestérol est plus sensible à l'attaque, qui se porte sur le groupe hydroxyle. Cette supposition trouve un appui dans les graphiques I à III de la fig. 2, qui se rapportent à un ozone plus dilué et dont l'action est par conséquent moins intense; l'oxydation est alors à peu près la même pour le cholestérol et son acétate (superposition des courbes dans le graphique III, fig. 2).

L'ozonation du cholestérol en solution hexanique marque bien une baisse de la consommation, après la saturation de la double liaison (IV de la fig. 2); mais elle est beaucoup plus faible (comparaison des deux dissolvants, V de la fig. 2) en raison de la forte altération de l'hexane par l'action oxydante de l'ozone. Celle-ci est telle que la courbe remonte quelque peu, alors que le cholestérol est précipité pour la majeure partie sous forme d'ozonide et que ce dernier a été éliminé en grande partie par décantation.

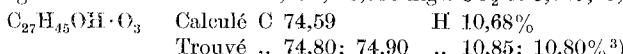
**Obtention et isolation des produits d'ozonation.**

Nous ne donnerons ici que les résultats, parmi de nombreux autres<sup>2)</sup>, de quelques préparations.

**A. Ozonides normaux.***a) Ozonide du cholestérol.*

3 millimoles (1,158 gr.) de cholestérol, dissoutes dans 115 cm<sup>3</sup> d'hexane ont été traitées, à température ordinaire, par un courant d'ozone à 0,5% pendant 330 minutes en 5 étapes successives. Il se forme bientôt un trouble dans la solution, puis l'ozonide précipite. Au moment où ce précipité a été filtré, 4,6 millimoles d'ozone avaient circulé, dont 3,4 avaient été consommées. L'ozonide filtré, lavé à l'hexane et séché au vide, représentait une masse blanche fondant à 115—117° avec décomposition, et pesant 1,046 gr., soit 80% du rendement théorique.

3,825; 3,900 mgr. de subst. ont donné 10,490; 10,750 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,710; 3,765 mgr. H<sub>2</sub>O



Dans une autre expérience, 6 millimoles de cholestérol (2,316 gr.) dissoutes dans 300 cm<sup>3</sup> d'hexane ont été ozonées pendant 240 minutes en 3 étapes successives. Ozone ayant circulé: 8,0 millimoles; consommé: 6,9 millimoles. (La solution filtrée de l'ozonide

<sup>1)</sup> Deux tableaux reproduisant schématiquement la marche et les résultats obtenus pour plus d'une douzaine d'opérations d'ozonation se trouvent à la fin de la thèse de M. Berenstein.

<sup>2)</sup> Voir thèse de M. Berenstein, loc. cit.

<sup>3)</sup> Les analyses ont été effectuées soit par les soins de la maison L. Givaudan & Cie, S.A., à Vernier (Genève), soit par le laboratoire de chimie analytique et de microchimie de l'Ecole de Chimie de Genève, Directeur: Prof. Dr. Paul E. Wenger.

ne jaunissait plus avec le tétranitrométhane, et ne contenait donc plus de cholestérol non attaqué.)

L'ozonide, traité comme dans l'opération précédente, représentait une masse blanche, partiellement transparente, fondant à 116—118° avec décomposition. Rendement: 1,875 gr. ou 73% de la théorie.

3,39 mgr. de subst. ont donné 9,29 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,14 mgr. H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>OH·O<sub>3</sub> Calculé C 74,59 H 10,68%

Trouvé ,, 74,78 ,, 10,36%

L'ozonide normal peut également être obtenu, comme il a déjà été dit, par ozonation dans le CCl<sub>4</sub>, à condition d'arrêter l'opération à temps.

5 millimoles (1,93 gr.) dissoutes dans 30 cm<sup>3</sup> de CCl<sub>4</sub> ont été ozonées pendant 180 minutes en une seule opération à température ordinaire (ozone à 0,5%). Circulation d'ozone: 4,24 millimoles, consommation: 4,07. La solution a ensuite été évaporée dans le vide à 40°, le résidu tritiqué plusieurs fois avec de l'éther de pétrole pour le débarrasser des restes de dissolvant et du cholestérol qui n'a pas réagi, puis séché dans le vide à poids constant à une température ne dépassant pas 40°. Rendement; 1,8 gr., soit environ 82% de la théorie, c. à d. presque exactement celui qui se déduit de la consommation d'ozone.

4,94; 3,10 mgr. de subst. ont donné 13,53; 8,49 mgr. CO<sub>2</sub> et 4,90; 3,10 mgr. H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>OH·O<sub>3</sub> Calculé C 74,59 H 10,68%

Trouvé ,, 74,70; 74,89 ,, 10,87; 10,69%

### b) Ozonide de l'acétate de cholestérol.

3 millimoles (1,248 gr.) d'acétate de cholestérol dissoutes dans 40 cm<sup>3</sup> d'hexane ont été ozonées pendant 120 minutes en 2 étapes (ozone à 0,5%) à température ordinaire. Circulation d'ozone 3,24 millimoles, consommation 2,22<sup>1)</sup>. Par évaporation de la solution, Trituration du résidu avec peu d'hexane pour en éliminer l'acétate non ozoné et dessiccation au vide à 48—50°, à poids constant, l'ozonide normal de l'acétate de cholestérol a été obtenu avec un rendement d'environ 70% (d'après la consommation en ozone un rendement de 74% au maximum pouvait être obtenu).

4,63 mgr. de subst. ont donné 12,37 mgr. CO<sub>2</sub> et 4,15 mgr. H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>OCOCH<sub>3</sub>·O<sub>3</sub> Calculé C 73,11 H 10,08%

Trouvé ,, 72,85 ,, 10,03%

### B. Produits de suroxydation.

Lorsque l'ozonation se fait dans un dissolvant dans lequel l'ozonide formé est soluble, il suffit d'un léger excès d'ozone consommé par rapport à la quantité théoriquement requise pour la formation de l'ozonide normal, ou même d'une quantité restant juste en dessous de cette limite, pour provoquer la formation de produits suroxydés, se révélant à l'analyse par une teneur trop basse, soit en carbone, soit en hydrogène. Tel a par exemple été le cas dans une opération où 6 millimoles de cholestérol, ozonées en solution CCl<sub>4</sub>, avaient absorbé 5,8 millimoles d'ozone, ou dans une autre, où 3 millimoles d'acétate ozonées dans l'hexane avaient absorbé 3,5 millimoles d'ozone. Et même dans le cas où, par une précipitation de l'ozonide au sein de la solution, les dangers d'une suroxydation sont moindres, celle-ci peut néanmoins se produire lorsque l'ozonation est par trop prolongée, ce que nous avons observé dans une expérience où 3 millimoles de cholestérol, dissoutes dans 100 cm<sup>3</sup> d'hexane, avaient consommé 4,3 millimoles d'ozone. La teneur en oxygène de tels produits correspond à une addition de 3 à 4 atomes d'oxygène par molécule, composition notée à diverses reprises par nos prédecesseurs.

<sup>1)</sup> En comparant la proportion d'ozone consommé à celle obtenue pour le cholestérol lui-même en solution hexanique dans des conditions analogues, on constate que ce rapport est sensiblement plus faible dans le cas de l'acétate. Celui-ci absorbe donc moins bien l'ozone que le cholestérol en solution hexanique, contrairement à ce qui se passe en solution CCl<sub>4</sub>, où, nous l'avons vu, les courbes d'absorption dans le cas de l'ozone à 0,5% se confondent pratiquement.

En poussant plus à fond encore l'ozonation, nous sommes arrivés, comme eux, à des produits dont l'analyse conduit à une addition de 6 à 7 atomes d'oxygène. Ainsi, 8 millimoles de cholestérol dissoutes dans 50 cm<sup>3</sup> de CCl<sub>4</sub> ont été ozonées pendant 600 minutes par un courant d'ozone à 1,7%. Consommation totale d'ozone 26 millimoles. Le produit, qui avait précipité sous forme d'une gelée, a été séparé des eaux-mères par centrifugation et décantation, lavé, séché. Poids 2 gr. environ. Point de fusion environ 90°, soit à peu près le même que celui trouvé par *Dorée* et *Orange* pour des produits analogues.

4,91; 4,82 mgr. de subst. ont donné 12,12; 11,89 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,52; 3,40 H<sub>2</sub>O  
 $C_{27}H_{45}OH \cdot O_6$  Calculé C 67,17 H 9,62%  
 Trouvé „, 67,32; 67,28 „, 8,02; 7,90%

Voici un dernier exemple, qui montrera combien sont peu satisfaisants les résultats de l'ozonation effectuée en solution chloroformique; 3 millimoles de cholestérol, dissoutes dans 30 cm<sup>3</sup> de ce dissolvant, ont été ozonées pendant 135 minutes avec un courant d'ozone à 0,4% seulement. Consommation: 3,3 millimoles sur 3,7 ayant circulé. La suroxydation a donc été faible. La solution, qui n'a pas précipité, a été évaporée à sec dans le vide.

6,48; 3,89 mgr. de subst. ont donné 15,54; 9,40 mgr. CO<sub>2</sub> et 5,85; 3,64 H<sub>2</sub>O  
 $C_{27}H_{45}OH \cdot O_7$  Calculé C 65,01 H 9,31%  
 Trouvé „, 65,4; 65,9 „, 10,01; 10,47%

La teneur en carbone tendrait ainsi à faire croire à une addition d'environ 7 atomes d'oxygène, alors que, d'après l'ozone consommé, la moitié seulement de cette quantité peut avoir été additionnée. L'étude ultérieure du produit nous a fourni la clé de cette divergence: un essai d'acidité y a en effet révélé la présence de fortes quantités d'acide chlorhydrique, provenant de l'attaque du dissolvant par l'ozone. Cette présence, qui a échappé à nos prédecesseurs, explique le résultat étonnant de l'analyse centésimale: teneur basse en carbone et teneur apparente élevée en oxygène, qui les a induits à une interprétation entièrement erronée des faits observés.

### Propriétés des produits d'ozonation.

L'ozonide normal de cholestérol est soluble dans le chloroforme et le tétrachlorure de carbone, moins dans l'éther, très peu soluble ou insoluble dans les alcools méthylique et éthylique, l'acétone, l'hexane. Les solutions sont fluorescentes. Il ne donne pas, avec le réactif de *Liebermann-Burchard*, la réaction caractéristique du cholestérol (coloration verte transitoire, produite en solution chloroformique par l'addition d'anhydride acétique et d'acide sulfurique, en quelques minutes), mais, après 24 heures, une coloration jaune sale, accompagnée d'une fluorescence blanc-vertâtre intense, apparaît. Ses solutions ne jaunissent pas par adjonction de tétranitrométhane<sup>1</sup>), preuve qu'il ne contient plus de double liaison.

Comparé à la plupart des autres ozonides examinés dans ce laboratoire, l'ozonide du cholestérol est d'une stabilité beaucoup plus grande. Comme il a été mentionné déjà dans la partie générale, un échantillon analysé à deux mois d'intervalle n'a révélé aucune modification de sa composition. La viscosité d'un autre échantillon, redéterminée après 8 jours, a fourni les mêmes résultats qu'à la première détermination<sup>2</sup>).

L'ozonide normal de l'acétate de cholestérol se distingue de celui du cholestérol par sa plus grande solubilité dans les dissolvants organiques, surtout l'hexane.

Il est sans intérêt de s'arrêter longuement sur les propriétés des mélanges de substances que représentent les produits de suroxydation. Notons seulement que leurs solutions dans le chloroforme ou l'éther ont une coloration jaune intense, alors que celles des ozonides normaux sont incolores. Les produits de suroxydation se distinguent en outre par une odeur tout à fait particulière.

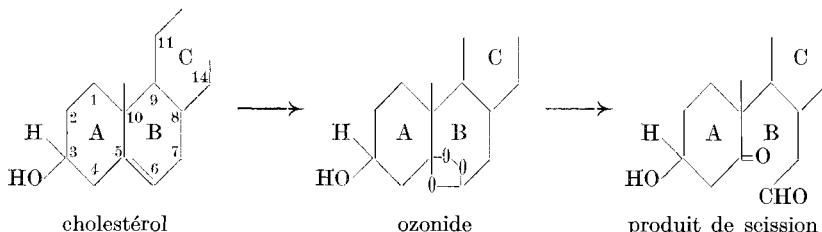
<sup>1)</sup> Ce réactif caractéristique d'une double liaison a été trouvé par *I. Ostromisslensky*, *B. 43*, 197 (1910); *J. pr.*, [2] **84**, 459 (1911).

<sup>2)</sup> Pour plus de détails concernant cette viscosité, ainsi que pour l'étude d'autres propriétés physiques et physico-chimiques de l'ozonide, nous renvoyons à l'article suivant de *M. Berenstein, H. Paillard et E. Briner*.

## **Etude des produits de scission (ozonolyse) des ozonides du cholestérol et de son acétate.**

Nous avons examiné la réaction de l'iodure de potassium, en vue de la détermination de l'oxygène actif, sur les produits d'ozonation. Pour plusieurs ozonides préparés et étudiés dans le laboratoire, notamment l'ozonide d'anéthol<sup>1</sup>), cette réaction, qui est en définitive une scission réductrice, donne des quantités d'iode libéré assez voisines de celles correspondant à l'oxygène actif de l'ozone fixé. Pour l'ozonide du cholestérol et de son acétate, les résultats trouvés ont toujours été inférieurs. C'est ainsi que le dosage de l'oxygène actif de l'ozonide du cholestérol (ozonation dans l'hexane) n'a donné que le 20% environ de la quantité attendue, valeur obtenue aussi pour l'ozonide de l'acétate. Ces constatations sont en rapport avec la stabilité plus grande de l'ozonide de ces deux corps. Les essais de scission par action de l'eau froide et de l'eau chaude à la pression ordinaire ou sous pression n'ont pas donné d'indication nette touchant l'existence d'aldéhydes ou d'acides aliphatiques (emploi de réactifs usuels pour la recherche et le dosage de ces corps<sup>2</sup>).

Un échantillon d'ozonide normal (ozonation en solution d'hexane) traité par une solution de NaOH 0,1 N en vue de la scission, a donné une acidité qui, étant donnés les résultats négatifs des traitements par l'eau seule, doit se rapporter à un acide de poids moléculaire élevé. Ces résultats nous ont conduits à examiner plus spécialement les produits de la scission réductrice de l'ozonide. D'après la place de la double liaison dans la molécule de cholestérol, l'ozonide de cholestérol et son produit de scission réductrice doivent avoir les constitutions suivantes:



Comme agents de scission réductrice, nous avons utilisé le nickel-*Raney*<sup>3)</sup> et l'hydrogénosulfite de sodium.

Utilisé, à titre d'essai, pour la réduction de l'ozonide d'anéthol, le nickel-*Raney* nous a donné l'aldéhyde anisique attendu, identifié par sa semicarbazone. L'ozonide de cholestérol (ozonation dans l'hexane) a été dissous dans l'éther et traité pendant plusieurs jours par un grand excès du réactif; pour amener la disparition de l'oxygène actif, il a fallu encore remplacer l'éther par l'alcool et chauffer pendant une dizaine d'heures. On a obtenu ainsi une huile plus ou moins colorée, dont nous n'avons pu retirer, par des traitements appropriés, aucune oxime, hydrazone ou semicarbazone cristallisées.

En revanche, l'ozone de l'acétate de cholestérol, qui est soluble dans l'hexane, a pu être réduit beaucoup plus facilement dans ce dissolvant par le nickel-Raney. Après 12 heures de chauffage, l'oxygène actif n'était plus décelable; l'huile brune, résidu de l'évaporation de l'hexane, a donné avec le chlorhydrate de semicarbazide, après un traitement approprié, une petite quantité de produit solide (p. de f. 250°).

<sup>1)</sup> *E. Briner et S. de Nemitz*, Helv. **21**, 748 (1938), mémoire dans lequel on trouvera une description de la technique opératoire appropriée à la mesure de l'oxygène actif des ozonides. Voir aussi sur ce sujet *E. Briner et P. Schnorf*, Helv. **12**, 154 (1929). Des détails sur les précautions à prendre dans l'application de cette méthode sont donnés dans la thèse de *M. Berenstein*, loc. cit.

<sup>2)</sup> Voir *E. Briner* et *S. de Nemitz*, loc. cit., et *M. Berenstein*, loc. cit.

<sup>3)</sup> Appliqué pour la première fois à la réduction des ozonides par Cook et Whilmore, Am. Soc. 63, 3540 (1941).

La réduction au moyen de l'hydrogénosulfite a conduit aux résultats suivants: l'ozonide de cholestérol (ozonation dans l'hexane) traité par le réactif dans des conditions appropriées, a donné avec le chlorhydrate de semicarbazide un produit finement cristallisé, fondant avec décomposition à 234° (corr. 238°). Une substance également bien cristallisée et de p. de f. voisin 236°, a été obtenue en traitant de la même façon un produit d'ozonation du cholestérol en solution de  $\text{CCl}_4$ . Malheureusement les quantités de ces deux substances ont été trop faibles pour se prêter à des examens plus approfondis.

*Recherche de  $\text{CO}_2$ .* La forte consommation d'ozone enregistrée lors de l'ozonation du cholestérol en solution de  $\text{CCl}_4$  pourrait conduire à supposer que la molécule même du cholestérol était détruite par une oxydation poussée, comme on l'a observé dans ce laboratoire pour l'ozonation de plusieurs corps. En pareil cas, on enregistre un fort dégagement d'anhydride carbonique<sup>1)</sup>. Or, plusieurs essais effectués en installant dans le circuit d'ozonation et après la solution à ozoner un flacon barboteur renfermant une solution de baryte caustique n'ont pas donné de quantités de  $\text{CO}_2$  décelables par la méthode de Kohn-Abrst.

Il faut en conclure que l'ozonation même poussée du cholestérol, dans les conditions où nous l'avons opérée, conduit à des oxydations qui ne dégradent pas la molécule au point de transformer certains de ses atomes de carbone en  $\text{CO}_2$ .

#### *Analyse chromatographique de l'ozonide normal du cholestérol et des produits de suroxidation.*

Une solution de l'ozonide normal (obtenu par ozonation dans l'hexane) dans  $\text{CHCl}_3$  a été adsorbée dans une colonne de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Schering (préalablement activée à 120° pendant 40 heures) et le chromatogramme développé par  $\text{CHCl}_3$ . La colonne a présenté une seule zone fluorescente rouge brique. Les tentatives d'éluation sont restées sans succès.

Les produits de suroxidation adsorbés dans une colonne  $\text{Al}_2\text{O}_3$  de Merck, standardisé selon Brockmann, ont présenté quatre zones fluorescentes, une zone bleuâtre, une autre blanchâtre, une zone jaune intense et une zone jaune clair. Cette dernière a été élue par  $\text{CCl}_4$ ; par contre l'éluation complète des autres zones n'a pu être réalisée, malgré la diversité des éluants employés. Il est donc probable que ce dernier produit représente un mélange d'au moins quatre corps différents, tandis que l'ozonide normal est un produit homogène.

#### RÉSUMÉ.

Les auteurs qui se sont occupés de l'ozonation du cholestérol étant parvenus à des résultats très divergents quant au nombre de molécules d'ozone fixées pour la formation d'un ozonide, nous avons repris l'étude du problème en nous servant d'une méthode d'ozonation quantitative, avec représentation graphique des proportions d'ozone consommées aux différentes étapes successives de l'ozonation.

Nous avons pu préparer ainsi, par une ozonation ménagée en solution de tétrachlorure de carbone (dissolvant non altéré par l'ozone), un ozonide (ozonide normal) répondant bien, selon les résultats des analyses, à la fixation d'une molécule d'ozone sur la double liaison du cholestérol. La continuation de l'absorption d'ozone, bien après cette fixation, atteste l'intervention de processus d'oxydation qui rendent compte des taux de fixation d'oxygène supérieurs enregistrés par plusieurs auteurs. Mais l'ozonide normal de cholestérol a été obtenu dans des conditions plus favorables en

<sup>1)</sup> Par exemple l'ozonation de l'acide maléique, des maléate et fumarate de sodium, de l'acide citraconique, etc. E. Briner et D. Franck, Helv. **21**, 1282 (1938).

opérant l'ozonation dans l'hexane, dissolvant dans lequel l'ozonide est très peu soluble et échappe, de ce fait, aux oxydations ultérieures. L'ozonide de l'acétate de cholestérol, qui, lui, est plus soluble dans l'hexane, a été préparé par une ozonation ménagée dans ce dissolvant.

L'ozonide normal de cholestérol est un solide blanc doué d'une certaine stabilité, comme tel ou en solution; cette stabilité explique les difficultés rencontrées dans les déterminations de son oxygène actif et dans les essais de scission (ozonolyse) tentés sur lui. Néanmoins des semicarbazones, malheureusement en trop petites quantités pour être étudiées, ont pu être obtenues pour les produits de scission réductrice de l'ozonide de cholestérol par l'hydrogénosulfite de sodium et de l'ozonide d'acétate de cholestérol par le nickel-Raney.

Nous tenons à remercier Monsieur H. Paillard du concours qu'il nous a prêté dans ce travail.

Genève, Laboratoires de Chimie technique, théorique et  
d'Electrochimie, Décembre 1945.

---

### 39. Etude de quelques propriétés physico-chimiques du cholestérol et de ses produits d'ozonation, notamment de son ozonide normal

par M. Berenstein, H. Paillard et E. Briner.

(27 XII 45)

Faisant suite au mémoire précédent<sup>1)</sup> relatif à une étude méthodique de l'ozonation du cholestérol, nous donnons ici quelques résultats de mesures physico-chimiques faites sur le cholestérol et ses produits d'ozonation.

Ces déterminations ont porté sur : le poids moléculaire d'un ozonide ; la densité, l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire, la tension superficielle, la viscosité et le spectre d'absorption du cholestérol et de quelques-uns de ses produits d'ozonation<sup>2)</sup>.

#### 1. Détermination du poids moléculaire de l'ozonide.

Ces mesures ont été faites sur l'ozonide dit normal du cholestérol, dont la composition centésimale correspond à celle de la formule

<sup>1)</sup> Voir M. Berenstein, A. Georg et E. Briner, Helv. **29**, 258 (1946), et pour les détails la thèse de M. Berenstein, Genève, 1944.

<sup>2)</sup> On trouvera dans la thèse de M. Berenstein citée plus haut les résultats de quelques déterminations de spectres Raman du cholestérol et de spectres de fluorescence du cholestérol et de son ozonide normal. Ces résultats sont peu concluants et nous comptons y revenir ultérieurement. Signalons que le spectre Raman du cholestérol a fait l'objet de déterminations de la part de C. Sannié et V. Poremski, C. r. **210**, 400 (1940).