

Zinkstaubdestillation des Cholesterins

Von

Paul Fantl

(Nach Versuchen mit Magdalene Kabos)

Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität Wien

(Vorgelegt in der Sitzung vom 6. Mai 1926)

Der Organismus der Wirbeltiere enthält wahrscheinlich nur ein Zoosterin, das Cholesterin. Es ist gewiß auffallend, daß das Cholesterin und die demselben chemisch verwandten Gallensäuren¹ die einzigen Vertreter komplizierter carbozyklischer Verbindungen sind, welche bisher im Tierkörper aufgefunden wurden,² während derartige Verbindungen in der Pflanzenwelt in großer Mannigfaltigkeit auftreten. Es ist demnach fraglich, ob der tierische Organismus überhaupt zum Aufbau des Cholesterins fähig ist.³ Sicher ist hingegen, daß die Phytosterine der Pflanzen, die wir in der Nahrung zu uns nehmen, im Körper in Cholesterin übergehen.⁴ Da die Phytosterine als höhere Terpene aufgefaßt werden, muß das gleiche für das Cholesterin gelten. Diese Ansicht ist schon oft ausgesprochen worden.⁵

Es ist nicht ausgeschlossen, daß das »Polyterpen« Cholesterin durch Molekülaufspaltung in einfache Terpene übergeführt werden kann. A. W. van der Haar⁶ hat Cholesterin mit Zinkstaub destilliert und dabei ein zum Teil mit Wasserdampf flüchtiges Öl von terpenartigem Geruch erhalten. Der Autor gibt jedoch nur Farbenreaktionen des Destillationsproduktes an. Mit Rücksicht auf die Bedeutung, welche diese Destillationsprodukte für die Konstitution des Cholesterins und dessen Terpennatur haben können, wurden sie in der vorliegenden Arbeit näher untersucht.

Destilliert man nun Cholesterin mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom unter Atmosphärendruck, so erhält man ein gelbgefärbtes, leicht fluoreszierendes Öl, welches mit Wassertröpfchen gemischt ist und im Geruch an ätherische Öle erinnert. Das erhaltene

¹ A. Windaus u. K. Neukirchen, B. 52, 1915.

² Vielleicht wären die im Tierreiche vielfach verbreiteten Lipochrome oder Fettfarbstoffe noch zu berücksichtigen.

³ S. J. Thannhauser u. H. Schaber, H. S., 127, 278; H. Beumer, Zeitschr. f. exp. Med., 35, 328; siehe auch C. Oppenheimer, Handbuch der Biochemie, 1925, VIII., 545.

⁴ C. Virchow, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1899, 559; E. Abderhalden, Lehrb. der physiol. Chemie. 1923, 302.

⁵ Walitzky, B. 9, 1310; J. Mauthner u. W. Suida, M. 15, 114; A. Windaus u. G. Stein, B. 37, 3700.

⁶ B. 55, 1054.

Produkt stellt ein Gemenge mehrerer Verbindungen dar, es gelingt daraus durch fraktionierte Vakuumdestillation fünf Fraktionen von leicht flüchtigen, dünnflüssigen bis viskosen Ölen zu erhalten. Die Analyse zeigt, daß die Körper in der Summenformel untereinander übereinstimmen. Leider ist die tiefststiedende Fraktion so leicht flüchtig, daß die Analyse nur schwer durchführbar ist. Es liegt nun nahe, anzunehmen, nachdem auch die Molekulargewichte dafür sprechen, daß man in allen Fällen den gleichen Kohlenwasserstoff in verschiedenen Polymerisationsstufen in der Hand hat. Offenbar ist der niedrigststiedende Kohlenwasserstoff die Grundsubstanz. Die Analysen stimmen gut mit der Formel der Terpene (C_5H_8)_x überein, lassen aber auch andere Möglichkeiten zu, da ein Unterschied einer CH_2 -Gruppe mehr oder weniger sich im Prozentgehalt kaum bemerkbar macht. Die Terpenderivate sind als solche durch Dichte und Molekularrefraktion gut charakterisierbar. Wenn man nun die Dichten und Brechungsindizes der zweiten und dritten Fraktion, welche dem Siedepunkte und Molekulargewichte nach den Mono-, beziehungsweise Sesquiterpenen entsprechen, vergleicht, findet man durchwegs viel höhere Werte als die entsprechenden Terpene verlangen:

Tabelle I.¹

$C_{10}H_{16}$ Sp. ₇₆₀ : 140—180°	d	n_D	MD
Bizyklisch 1	0·84—0·87	1·45—1·47	43·52
Monozyklisch 2	0·84—0·855	1·47—1·48	45·22
Aliphatisch 3	0·77—0·80	1·45—1·47	46·92
Fraktion II Sp. ₇ : 95—97°	0·8988	1·5060	44·95

Tabelle II.²

$C_{15}H_{24}$ Sp. ₇₆₀ : 260—280°	d	n_D	MD
Trizyklisch 1	0·935—0·91	1·50—1·49	64·4*
Bizyklisch 2	0·92—0·90	1·51—1·50	66·1
Monozyklisch 3	0·873	1·49	67·8
Aliphatisch 4	0·840	1·53	69·5
Fraktion III Sp. ₇ : 162—168°	0·9580	1·5301	66·16

¹ Zusammengestellt nach Angaben d. Lit.² Nach Ruzicka, Meyer, Mingazzini, Helv. chim. acta, 5, 345.

Wie die oben berechneten Molekularrefraktionen zeigen, sollte Fraktion II einem monozyklischen Terpen mit zwei Doppelbindungen diejenige der Fraktion III einem zweifach ungesättigten Sesquiterpen entsprechen. Bei der quantitativen Bromaddition kann man aber bei beiden Fraktionen kaum eine Doppelbindung nachweisen. Die einzelnen Fraktionen geben keine Fällungen mit Pikrinsäure, enthalten daher auch keine Naphthalinkohlenwasserstoffe. Die physikalischen Daten sprechen also nicht für Terpene, sondern für hydrierte polyzyklische Kohlenwasserstoffe. Der prozentischen Zusammensetzung nach wird man aber annehmen können, daß sie den Terpenen nahestehen.

Ein wesentlich anderes Ergebnis erhält man, wenn man das Cholesterin der Zinkstaubdestillation im Vakuum unterwirft. Es destilliert zuerst Wasser, dann ein zähflüssiges Öl über, welches in der Vorlage zu einer von wenig Öl durchtränkten krystallinischen Masse erstarrt. Es läßt sich daraus ein Kohlenwasserstoff $C_{27}H_{44}$ gewinnen. Nach seiner Bruttoformel gehört er in die Klasse der Cholesterilene, welche durch verschiedene Wasserabspaltungsmittel aus Cholesterin,¹ oder durch Salzsäureabspaltung aus Cholesterylchlorid erhalten worden sind.² Die Schmelzpunkte dieser Körper werden von 77 bis 80° angegeben, nur Tschugaeff und Fomin³ erhalten aus Cholesterylxanthogenat neben einem α -Cholesterilen vom Fp. 77°, ein β -Produkt vom Fp. 59°. Alle erhaltenen Cholesterilene sind linksdrehend. Das vorliegende Produkt erreicht nach häufigem Umkristallisieren einen Fp. von 73° mit einer Linksdrehung von $(\alpha)_D = -53 \cdot 37^\circ$. Der Schmelzpunkt läßt sich zwar noch weiter erhöhen, dabei tritt aber Racemisierung ein. Es wurde nun geprüft, ob das erwähnte Cholesterilen noch das Kohlenstoffskelett des Cholesterins enthält oder ob neben der Wasserabspaltung eine weitere Veränderung im Molekül, etwa durch Ringschluß eingetreten ist. Da das Cholesterin eine Doppelbindung besitzt, mußte durch eine einfache Wasserabspaltung eine zweite gebildet werden. Versuche, ein krystallisiertes Bromadditionsprodukt zu erhalten, schlugen fehl. Bei der quantitativen Durchführung der Bromaddition wurden nur zwei Bromatome addiert, daneben tritt Substitution ein. Mauthner's Cholesterilen addiert gleichfalls nur 2 Atome Halogen.⁴ Es ist nun denkbar, daß bei der Wasserabspaltung ein System konjugierter Doppelbindungen gebildet wird. Dieses sollte nach Semmler⁵ bei der Behandlung mit Natrium und Alkohol 2 Wasserstoffatome addieren. Windaus⁶ hat diese Reduktion an

¹ J. Mauthner u. W. Suida, Monatshefte f. Ch. 17, 29.

² Dieselben, ebenda, 24, 666; W. Steinkopf, J. pr., 100, 65.

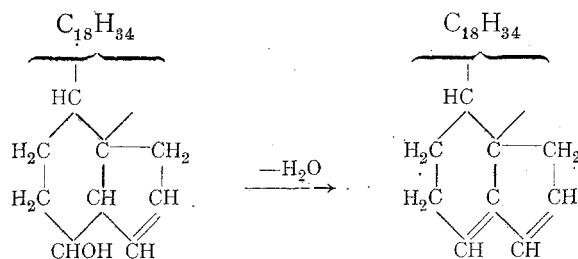
³ A. 375, 288.

⁴ Monatshefte f. Ch., 17, 38.

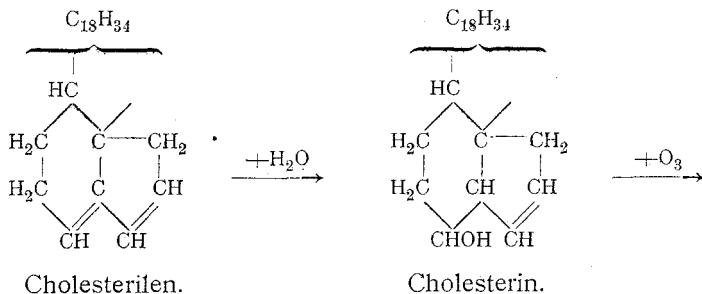
⁵ B. 34, 3126.

⁶ B. 39, 2261.

Mauthner's Produkt bereits mit negativem Erfolg durchgeführt. Auch das vorliegende Produkt bleibt selbst bei mehrfacher Behandlung mit Natrium und Amylalkohol unverändert. Es muß aber erwähnt werden, daß nach Auwers¹ die Semmler'sche Regel für Substanzen mit den Doppelbindungen im Ringe nicht unbedingte Geltung hat. Endlich wurde durch katalytische Hydrierung nach Windaus und Seng² festgestellt, daß das vorliegende Produkt tatsächlich zwei Doppelbindungen enthält, da 4 Wasserstoffatome aufgenommen wurden. Das Produkt der Hydrierung ist ein Gemenge der gesättigten Kohlenwasserstoffe Cholestan und Pseudocholestan ($C_{27}H_{48}$), wie es auch obgenannte Autoren erhalten haben. Da diese beiden Stoffe noch das gleiche Kohlenstoffskellett wie das Cholesterin haben, so ist gezeigt, daß das bei der Zinkstaubdestillation aus Cholesterin erhaltenen Produkt nur durch einfache Wasserabspaltung ohne weitere Veränderung des Moleküles entstanden ist.



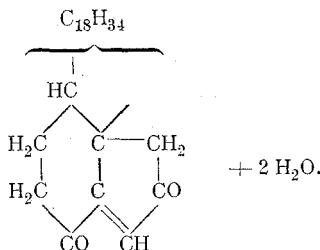
Ein weiterer Beweis, daß im vorliegenden Cholesterinen das Kohlenstoffskelett des Cholesterins unverändert geblieben ist, konnte durch die Oxydation mit Chromsäure erbracht werden. Dabei entsteht Oxycholestenon (Cholestendion 4, 7), welches als Phenylhydrazon isoliert werden konnte. Schon Windaus³ hat das Oxycholestenon aus Cholesterinen erhalten und angenommen, daß als Zwischenprodukt Cholesterin gebildet wird. Es gelang aber nicht,



1 B. 42, 4895.

² H. S. 117, 158.

3 B. 39, 2261.



Cholestendion (4, 7).

das Cholesterin nachzuweisen. Wenn man aber Cholesterinen in Benzol mit verdünnter Schwefelsäure und Eisessig schüttelt, wird Wasser angelagert und Cholesterin in geringer Menge gebildet, welches als schwerlösliches Digitonid isoliert werden kann. Dieser Reaktionsverlauf erscheint dadurch aufgeklärt.

Versuchsteil.

Zinkstaubdestillation von Cholesterin bei Atmosphärendruck.

50 g getrocknetes Cholesterin werden mit der achtfachen Menge Zinkstaub innig verrieben und aus einer Retorte am Sandbad der Destillation im Wasserstoffstrom unterwofen. Es gehen zuerst Wassertröpfchen, dann ein gelbes fluoreszierendes Öl in einer Ausbeute von 50 bis 60% über. Das Produkt wird mit Chlorcalcium getrocknet, dann durch wiederholte fraktionierte Destillation getrennt. Im Kolben bleibt ein zähes, braunes Harz zurück.

Fraktion I. Sp.7 50 bis 60° C.

5·195 mg. Substanz gaben 16·555 mg. CO_2 , 6·130 mg. H_2O .

Ber. für C_5H_8 : C 88·24, H 11·76;

gef.: C 86.94, H 13.20.

Die Substanz ist wegen ihrer Leichtflüchtigkeit schwer zu verbrennen.

Fraktion II. Sp. 95 bis 97° C. $d_{17} = 0.8988$, $n_D^{20} = 1.5060$,

MD ber. für C₁₀H₁₆ 2 Doppelbindgn.: 45.32; gef.: 44.95.

5.580 mg Substanz gaben 18.010 mg CO₂, 5.620 mg H₂O.

Ber. für $(C_5H_8)_3$: C 88.24, H 11.76;

gef.: C 88.05, H 11.27.

Die Molekulargewichtsbestimmung nach Rast im geschlossenen Röhrchen ergab: 4·629 mg Substanz, 99·370 mg Kampher, $\Delta = 12^\circ$.

Ber. f. $C_{10}H_{16}$: 136; gef.: 155.

Die quantitative Bromaddition in Tetrachlorkohlenstoff nach Parker Mc Ilhiney¹ ergab:

0.2235 g Substanz verbrauchten 40.19 cm^3 0.1 norm. Br, davon entfallen auf HBr 15.22 cm^3 0.1 norm. Br. M.-G.: 155. 1 Doppelbindg.

Ber.: 0.2305 g Br; gef.: 0.078 g Br,

¹ Am. Soc., 21, 1087.

Fraktion III. Sp.₇ 162 bis 168° C.; $d_{15} = 0.9530$, $n_D^{18} = 1.5301$,

M_D ber. für $C_{15}H_{24}$: 66.15; gef.: 66.16.

3.140 mg Substanz gaben 10.200 mg CO_2 , 3.200 mg H_2O .

Ber. für $(C_5H_8)_3$: C 88.24, H 11.76;

gef.: C 88.59, H 11.40.

5.733 mg Substanz, 111.980 mg Kampher $\Delta = 10^\circ$; 2.293 mg Substanz, 61.137 mg Kampher $\Delta = 7^\circ$.

Ber. für $C_{15}H_{24}$: 204; gef.: 205, 214.

0.1398 g Substanz verbrauchten 23.29 cm^3 0.1 norm. Br, davon entfielen auf HBr 9.65 cm^3 0.10 norm. Br. M.-G. 205. 1 Doppelbindg.

Ber.: 0.1090 g Br; gef.: 0.0319 g Br.

Fraktion IV. Sp₇ 185 bis 187° C; $d_{16} = 0.9892$, $n_D^{18} = 1.5518$.

3.388 mg Substanz gaben 11.015 mg CO_2 , 3.410 mg H_2O .

Ber. f. $(C_5H_8)_4$: C 88.24, H 11.76;

gef.: C 88.67, H 11.27.

6.708 mg Substanz, 70.305 mg Kampher $\Delta = 15^\circ$; 1.902 mg Substanz, 59.201 mg Kampher $\Delta = 5^\circ$.

Ber. für $C_{20}H_{32}$: 272; gef.: 252, 254.

Cholesterilen.

50 g Cholesterin werden mit 400 g Zinkstaub innig gemischt und aus einer Retorte im Wasserstoffstrom bei 10 mm Druck destilliert. Über 200° beginnt die Destillation. Nach einigen Tropfen Wasser geht ein alsbald erstarrendes Öl über. Nach ungefähr einer halben Stunde ist die Destillation beendet. Das Rohprodukt wiegt 37 bis 47 g. Die Ausbeute an festem Produkt ist stark abhängig vom Vakuum. Sie wächst mit Abnahme des Druckes. Das Produkt wird durch Absaugen von ölichen Beimengungen befreit und aus Alkohol umkristallisiert. Ausbeute 26 bis 30 g. Fp. 68° C. Nach sehr häufigem Umkristallisieren aus Alkohol und Äther-Alkohol liegt der Fp. bei 75°.

0.0552 g Substanz gaben 0.1782 g CO_2 , 0.0609 g H_2O .

Ber. für $C_{27}H_{44}$: C 87.96, H 12.04;

gef.: C 88.07, H 12.35.

1.42 mg Substanz, 51.370 mg Kampher $\Delta = 3^\circ$.

Ber. für $C_{27}H_{44}$: 368; gef.: 370.

Es wurden Drehungen von verschiedenen hochschmelzenden Produkten bestimmt:

Fp. 68°; $c = 2.75$, $t = 26^\circ$, $\alpha = +0.08^\circ$, $(\alpha)_D = +1.45^\circ$. Fp. 73°; $c = 2.08$, $t = 22^\circ$, $\alpha = -2.22^\circ$, $(\alpha)_D = -53.37^\circ$. Fp. 75°; $c = 2.34$, $t = 20^\circ$, $\alpha = -0.21^\circ$, $(\alpha)_D = -4.49^\circ$. Beim öfteren Umkristallisieren kann der Fp. nicht mehr gesteigert werden, die Drehung nimmt aber beträchtlich ab.

0.3040 g Substanz verbrauchten in 18^h 31.32 cm^3 0.1 norm. Br; es entfielen auf HBr 8.36 cm^3 0.1 norm. Br.

0.2224 g Substanz verbrauchten in 48^h 22.83 cm^3 0.1 norm. Br; es entfielen auf HBr 5.15 cm^3 0.1 norm. Br.

Ber.: 0·1429 g Br, 0·0966 g Br;
gef.: 0·1164 g Br. 0·1002 g Br.

Zum Vergleich wurde eine Bestimmung mit Cholesterin durchgeführt:

0·3307 g Substanz verbrauchten 18·61 cm³ 0·1 norm. Br; auf HBr. entfielen 1·37 cm³ 0·1 norm. Br.

Ber.: 0·1368 g Br.; gef.: 0·127 g Br.

2 g Cholesterinen werden in viel Amylalkohol gelöst. In der Siedehitze wird Natrium in kleinen Stücken solange eingebracht, bis die Masse beim Erkalten gallertartig erstarrt. Das Produkt wird in eiskalte verdünnte Schwefelsäure eingebracht und ausgeäthert. Der ätherische Rückstand wurde noch zweimal in der gleichen Weise behandelt und das erhaltene Reaktionsprodukt aus Alkohol umkristallisiert. Fp. 73°, Mischschmelzpunkt mit Ausgangsmaterial 73°.

4·495 mg Substanz gaben 14·480 mg CO₂, 5·000 mg H₂O.

Ber. für C₂₇H₄₄: C 87·96, H 12·04;
gef.: C 87·88, H 12·44.

Somit wurde Cholesterinen unverändert zurückgewonnen.

Cholestan und Pseudocholestan.

2 g Cholesterinen werden in abs. Äther gelöst, mit 2 g Palladiumschwarz versetzt und mit gereinigtem Wasserstoff unter schwachem Überdruck geschüttelt, bis kein Wasserstoff mehr absorbiert wird. Die ätherische Lösung wird nach dem Abfiltrieren von Palladium mit konzentrierter Schwefelsäure und Essigsäureanhydrid geschüttelt, um eventuell noch vorhandenes Cholesterinen zu entfernen. Nach dem Verdampfen des Äthers bleibt eine krystallinische Masse zurück, welche unter dem Mikroskop neben Blättchen Nadeln erkennen lässt. Die beiden Substanzen werden durch häufige fraktionierte Krystallisation aus Alkohol von einander getrennt. Die in Blättchen krystallisierte Substanz schmilzt bei 80° und gibt mit Cholestan keine Schmelzpunktsdepression. Die andere Substanz schmilzt bei 61°. Der Schmelzpunkt ließ sich zwar infolge der erhaltenen geringen Menge nicht weiter erhöhen, die Substanz gibt aber keine Depression mit Pseudocholestan vom Fp. 68°.

Cholestan:

4·127 mg Substanz gaben 13·175 mg CO₂, 4·685 mg H₂O.
Ber. für C₂₇H₄₈: C 87·02, H 12·98;
gef.: C 87·00, H 12·71.

Pseudocholestan:

4·037 mg Substanz gaben 12·735 mg CO₂, 4·990 mg H₂O.
Ber. für C₂₇H₄₈: C 87·02, H 12·98;
gef.: C 86·06, H 13·83.

Wegen Materialmangel konnte diese Analyse nicht wiederholt werden.

Cholestendion (4, 7).

5 g Cholesterinen werden in 45 cm³ Benzol gelöst, dann unter Zusatz von 20 cm³ Eisessig nach dem Erkalten mit einer Lösung von 7 g CrO₃ in 40 cm³ H₂SO₄ (1:3) 6 Stunden geschüttelt. Die benzolische Lösung wird durch Behandlung mit Lauge in neutrale und saure Produkte getrennt. Der saure Anteil stellt ein nichtkrystallisierendes Harz dar und wurde als amorphes Kupfersalz isoliert. Der neutrale Teil wird aus Alkohol fraktioniert krystallisiert. Die heiße alkoholische Lösung der ersten Fraktion gibt mit Phenylhydrazin und einigen Tropfen Eisessig versetzt, eine gelbe krystallinische Fällung. Sie wird durch Auflösen in Chloroform und Versetzen

der Lösung mit mehrfachem Volumen Alkohol umkristallisiert. Fp. 271°; Mischschmelzpunkt mit Oxycholestenonphenylhydrazon unverändert. Gibt mit konzentrierter Schwefelsäure eine rotviolette Färbung.¹

5·650 mg Substanz (751 mm, 24°) gaben 0·303 cm³ N.

Ber. für C₃₃H₄₈N₂O: N 5·74;

gef.: N 6·09.

Die anderen Fraktionen des neutralen Oxydationsproduktes haben den Schmelzpunkt 72 bis 74°, sind unverändertes Ausgangsmaterial.

0·0702 g Substanz gaben 0·2261 g CO₂, 0·0782 g H₂O.

Ber. für C₂₇H₄₄: C 87·96, H 12·04;

gef.: C 87·87, H 12·47.

Der saure Anteil wird in Ammoniak gelöst, nach Entfernung des überschüssigen Ammoniaks mit Kupfersulfat versetzt. Es entsteht ein dunkelgrünes, amorphes Kupfersalz:

4·366 mg Substanz gaben 0·440 mg CuO, 10·486 mg CO₂, 3·578 mg H₂O.

Gef.: C 65·52, H 9·17, Cu 8·05.

Wasseranlagerung an Cholesterinen.

5 g Cholesterinen werden in 45 cm³ Benzol gelöst, dann mit 20 cm³ Eisessig und 40 cm³ Wasser + konzentrierter Schwefelsäure (im Verhältnis 3:1) versetzt und 6 Stunden lang geschüttelt. Nach Verdampfen des Benzols wird der Rückstand in Alkohol gelöst, die heiße alkoholische Lösung mit einer siedenden 1prozentigen alkoholischen Lösung von Digitonin versetzt. Beim Erkalten scheidet sich das schwerlösliche Digitonid aus, welches aus Methylalkohol umkristallisiert wird. Zersetzungspunkt über 240°.²

3·672 mg Substanz, bei 110° getrocknet, gaben 8·270 mg CO₂, 2·940 mg H₂O.

Ber. für C₈₂H₁₄₀O₂₉: C 61·93, H 8·88;

gef.: C 61·45, H 8·96.

Für die Ausführung einiger Mikro-C-H-Bestimmungen sind wir Herrn Dr. A. Friedrich zu Dank verpflichtet.

¹⁾ J. Mauthner und W. Suida, Monatshefte f. Ch., 17, 586.

²⁾ A. Windaus, B., 42, 240.