548. A. Windaus: Über Cholesterin. XII.

[Aus der Medizinischen Abteilung des Universitätslaboratoriums Freiburg i. B.]

(Eingegangen am 4. Oktober 1909.)

Durch die bisherigen Untersuchungen sind im Cholesterin nachgewiesen worden 1. eine sekundäre Alkoholgruppe, die in einem hydrierten Ringe zwischen zwei Methylengruppen steht; 2. ein endständiger Vinylrest; 3. eine Isoamylgruppe¹⁾. Die Formel $C_{27}H_{46}O$ des Cholesterins läßt sich also auflösen in

Die vorliegende Arbeit ist eine Ergänzung zu den Mitteilungen X²⁾ und XI³⁾, in welchen der Abbau der von Diels und Abderhalden⁴⁾ erhaltenen Säure C₂₇H₄₄O₄ beschrieben worden war. Die einzelnen Phasen dieses Abbaus seien kurz rekapituliert. 1. Cholesterin wird durch unterbromigsaures Kalium an der sekundären Alkoholgruppe angegriffen und in die Säure C₂₇H₄₄O₄ (II) verwandelt. 2. Durch eine drei Atomen Sauerstoff entsprechende Menge Kaliumpermanganat tritt Oxydation an der Vinylgruppe ein, und es entsteht aus der Säure II durch eine eigenartige Ringschließung⁵⁾ eine ungesättigte Monoketodicarbonsäure C₂₇H₄₀O₅ (III). 3. Durch Zuführung weiterer drei Atome Sauerstoff in Form von Kaliumpermanganat bildet sich aus der Säure (III) eine gesättigte Diketotricarbonsäure C₂₇H₄₀O₈ (IV). Von den beiden Carbonylgruppen dieser Säure reagiert nur die eine mit Hydroxylamin. 4. Bei der Oxydation mit Chromsäure zerfällt die Säure (IV) in zwei Moleküle Kohlensäure und in ein Molekül einer Tricarbonsäure C₂₅H₄₀O₆ (V). 5. Letztere endlich wird beim Erwärmen mit rauchender Salpetersäure in α-Oxyisobuttersäure und in eine Tetracarbonsäure C₂₁H₃₀O₈ (VI) gespalten. Nebenbei entsteht ein Trinitrosubstitutionsprodukt C₂₅H₃₇O₆(NO₂)₃, aus welchem ebenfalls eine Anzahl Abbauprodukte gewonnen wurde.

¹⁾ Aus dem Verhalten des Cholesterins und seiner Derivate gegenüber Ozon haben Molinari und Fenaroli (diese Berichte **41**, 2785 [1908]), sowie Dorée (Journ. Chem. Soc. **95**, 638) auf das Vorhandensein einer zweiten Doppelbindung geschlossen.

²⁾ Diese Berichte **41**, 611 [1908]. ³⁾ Diese Berichte **41**, 2558 [1908].

⁴⁾ Diese Berichte **36**, 3177 [1903]; **37**, 3092 [1904].

⁵⁾ s. hierzu Perkin und Wallach, diese Berichte **42**, 145 [1909].

Alle erwähnten Produkte sind schön krystallisiert erhalten und durch eine Reihe von Derivaten charakterisiert worden.

Bei den eben besprochenen Umsetzungen ist es also gelungen, durch die auf einander folgende Verwendung von vier verschiedenen Oxydationsmitteln (unterbromigsaurem Kalium, Kaliumpermanganat, Chromsäure, rauchender Salpetersäure) einen übersichtlichen, stufenweise erfolgenden Abbau des Cholesterins durchzuführen. Interessant ist es, dabei zu beobachten, wie für die verschiedenen Oxydationsmittel auch verschiedene Stellen im Molekül sich als angreifbar erweisen. Kürzlich habe ich nun dieselben Oxydationsmittel in anderer Reihenfolge und unter anderen Bedingungen auf einige der oben erwähnten Abbauprodukte einwirken lassen, um zu prüfen, ob hierbei noch neue Resultate erhalten werden könnten.

Einwirkung von unterbromigsaurem Kalium auf die Diketotricarbonsäure $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_8$ (IV).

Während Chromsäure die beiden $\text{CO}.\text{COOH}$ -Gruppen der Diketotricarbonsäure $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_8$ zu Carboxyl oxydiert und die Tricarbonsäure $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_6$ (V) entstehen läßt, erhält man mittels unterbromigsaurem Kalium ein Zwischenprodukt, eine Monoketotricarbonsäure $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_7$, in welcher nur die eine der beiden $\text{CO}.\text{COOH}$ -Gruppen zu Carboxyl oxydiert worden ist.

10 g Säure $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_8$ in 50 ccm 10-prozentiger Kalilauge wurden mit einer kalt bereiteten Auflösung von 5 g Brom in 100 ccm 10-

prozentiger Kalilauge versetzt; nach 24 Stunden wurde die Lösung mit Schwefelsäure und ein wenig schwefliger Säure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther hinterließ beim Eindunsten eine farblose, amorphe Masse, die nicht krystallisiert erhalten werden konnte. Wohl aber lieferte sie ein prächtig krystallisierendes, drittel-saures Kaliumsalz. Zur Bereitung desselben wurde das Oxydationsprodukt in 90 Tln. 95-prozentigem Alkohol gelöst; 30 ccm dieser Lösung wurden genau mit *n*-Kalilauge neutralisiert und die übrigen 60 ccm in der Hitze dazu gegeben. Als bald begann die Abscheidung des sauren Kaliumsalzes, das in vierseitigen Blättchen krystallisierte und für die Analyse wiederholt aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurde. Ausbeute 6.5 g.

0.1505 g Sbst. (bei 100° getrocknet): 0.3410 g CO₂, 0.1141 g H₂O. — 0.3287 g Sbst.: 0.0499 g KCl.

C₂₆H₃₉O₇K. Ber. C 62.09, H 7.82, K 7.79.

Gef. » 61.79, » 8.48, » 7.97.

Titration: 0.3008 g Sbst. verbrauchten 12.2 ccm $\frac{1}{10}$ -*n*. Lauge.

Äquivalentgewicht für C₂₆H₃₉O₇K (zweibasisch). Ber. 251. Gef. 247.

Die aus dem krystallisierten Kaliumsalz zurückgewonnene Säure konnte auch jetzt nicht in Krystallen, sondern nur in Körnern gewonnen werden; gegen Lösungsmittel verhält sie sich ähnlich wie die Säure C₂₇H₄₀O₈.

Titration: 0.2734 g Sbst. verbrauchten 16.9 ccm $\frac{1}{10}$ -*n*. Lauge.

Äquivalentgewicht für C₂₆H₄₀O₇ (dreibasisch). Ber. 155. Gef. 162.

Von den beiden CO.CO₂H-Gruppen der Säure C₂₇H₄₀O₈ reagiert, wie oben erwähnt, nur die eine mit Hydroxylamin; diese scheint es zu sein, welche von unterbromigsaurem Kalium oxydiert worden ist; denn die Säure C₂₆H₄₀O₇ ist völlig indifferent gegen Hydroxylamin; von Chromsäure wird sie dagegen leicht angegriffen und in glatter Reaktion in die Tricarbonsäure C₂₅H₄₀O₆ (V) verwandelt.

Einwirkung von heißer Chromsäurelösung auf die Säure C₂₅H₄₀O₆ (V).

Die eben erwähnte Säure C₂₅H₄₀O₆ ist in der Kälte gegenüber Chromsäure sehr beständig, in der Hitze wird aber auch sie angegriffen, und zwar erleidet sie, wie die Untersuchung ergeben hat, einen Zerfall in Aceton und in eine neue Tetracarbonsäure C₂₂H₃₂O₈.

Eigenartig ist es, daß bei der Oxydation mit Chromsäure Bruchstücke mit drei und mit zweiundzwanzig Kohlenstoffatomen entstehen, während bei der Oxydation mit Salpetersäure Bruchstücke mit vier und mit einundzwanzig Kohlenstoffatomen (α -Oxyisobuttersäure und die Säure $C_{21}H_{30}O_2$) gebildet werden.

20 g Säure $C_{25}H_{40}O_6$ (V) in 400 ccm 75-prozentiger Essigsäure wurden am absteigenden Kühler erhitzt, während gleichzeitig eine Lösung von 15 g Chromsäure in 150 ccm 50-prozentiger Essigsäure im Laufe einer Stunde in die siedende Mischung eingetropft wurde.

Das an Essigsäure reiche Destillat wurde vorsichtig mit Kalilauge neutralisiert und wieder destilliert. Dieses Destillat gab eine sehr starke Jodoformreaktion; an der Oberfläche schwammen einige Tropfen eines farblosen, leichtflüssigen Öles, das einen angenehmen Geruch besaß. Dieser »riechende Stoff« ist schon von Dorée und Gardner¹⁾, sowie von Diels²⁾ bei der Oxydation des Cholesterins mit Ozon beobachtet worden; er soll nach Dorée und Gardner wie Orangenblütenöl, nach Diels wie Methylhexylketon riechen.

Das angenehm riechende Öl ist indessen in dem Destillate nur in Spuren vorhanden; die starke Jodoform-Reaktion wird hauptsächlich oder ausschließlich durch die Gegenwart von Aceton hervorgerufen. Bei allen Versuchen, Derivate des »riechenden Stoffes« zu gewinnen, habe ich nur Abkömmlinge des Acetons erhalten. Ein Teil des Destillats wurde mit einer Auflösung von salzsaurem *p*-Nitrophenylhydrazin versetzt. Es fielen fast sofort gelbbraune Nadelchen heraus, die aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurden. Sie schmolzen bei 148–149° und gaben mit Aceton-nitrophenylhydrazon keine Schmelzpunktsdepression. Sehr empfehlenswert zum Nachweis des Acetons ist nach einer Mitteilung von F. Straus das zuerst von ihm dargestellte Di-*p*-chlorbenzylidenaceton³⁾, das selbst in heißem Alkohol oder Äther fast unlöslich ist und sich aus Essigäther gut umkrystallisieren läßt. Ein Teil des Destillats wurde mit dem gleichen Volumen Alkohol vermischt und mit *p*-Chlorbenzaldehyd und einigen ccm 10-prozentiger Kalilauge behandelt. Nach kurzem Stehen fiel das Di-*p*-chlorbenzylidenaceton aus, das in gelben Blättchen krystallisierte, nach dem Umkrystallisieren bei 192–193° schmolz und mit synthetischem Di-*p*-chlorbenzylidenaceton keine Schmelzpunktveränderung ergab.

Das flüchtige Oxydationsprodukt besteht also hauptsächlich aus Aceton.

¹⁾ Journ. Chem. Soc. **93**, 1330 [1908]; **95**, 642 [1909].

²⁾ Diese Berichte **41**, 2597 [1908].

³⁾ Diese Berichte **39**, 2997 [1906].

Die nicht flüchtigen Oxydationsprodukte wurden aus der verdünnt, essigsauren Lösung mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung wurde abdestilliert und schließlich, um die Essigsäure zu entfernen, auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft; der nun verbleibende Rückstand wurde dreimal mit je 300 ccm heißem Wasser ausgekocht; von dem in heißem Wasser gelösten Material fiel ein kleiner Teil beim Abkühlen ölig aus; die hiervon abgeessene Lösung wurde im Vakuum über Schwefelsäure langsam eingedunstet und schied hierbei allmählich krystallinische Massen ab, die nach mehreren Tagen abfiltriert und aus 250 Teilen kochenden Wassers umkrystallisiert wurden. Aus heißen konzentrierten Lösungen fallen sie ölig aus, aus verdünnten Lösungen krystallisieren sie in zu Rosetten angeordneten, ziemlich breiten Prismen, die ein Molekül Krystallwasser enthalten. Die neue Säure ist unlöslich in Petroläther, Benzol und Chloroform, schwer löslich in kaltem Wasser, leicht löslich in Alkohol, Äther und Eisessig. Beim Erhitzen im Schmelzpunktsröhrchen sintert die wasserfreie Säure bei 190° zusammen und schmilzt bei 194° . Ausbeute nur 8—10 %.

0.5986 g Sbst. (lufttrocken) verloren bei 105° 0.0246 g H_2O . — 1.3336 g Sbst. (lufttrocken) verloren bei 105° 0.0569 g H_2O .

$C_{22}H_{34}O_9$. Ber. $1H_2O$ 4.07. Gef. $1H_2O$ 4.11, 4.27.

0.1557 g Sbst. (bei 105° getrocknet): 0.3527 g CO_2 , 0.1104 g H_2O . — 0.1623 g Sbst. (bei 105° getrocknet): 0.3708 g CO_2 , 0.1145 g H_2O .

$C_{22}H_{32}O_8$. Ber. C 62.23, H 7.60.

Gef. » 61.78, 62.31, » 7.93, 7.89.

Titration: 0.1968 g Sbst. (bei 105° getrocknet) verbrauchten 18.1 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Lauge.

Äquivalentgewicht: $C_{22}H_{32}O_8$ (vierbasisch). Ber. 106. Gef. 109.

Molekulargewichtsbestimmung: 0.6192 g Sbst.: 16.43 g absoluter Alkohol, 0.108 $^{\circ}$ Erhöhung. — 1.320 g Sbst.: 16.43 g absoluter Alkohol, 0.226 $^{\circ}$ Erhöhung.

$C_{22}H_{32}O_8$. Ber. 424. Gef. 401, 409.

Salze. Zur Charakterisierung der Säure wurden noch die viertelsauren Rubidium- und Cäsiumsalze in der üblichen Weise bereitet.

Das viertelsaure Rubidiumsalz ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol, schwer löslich in 75-prozentigem Alkohol und krystallisiert hieraus in zugespitzten Prismen.

0.1937 g Sbst.: 0.3672 g CO_2 , 0.1137 g H_2O . — 0.3221 g Sbst.: 0.1878 g Rb_2PtCl_6 .

$C_{22}H_{31}O_8Rb$. Ber. C 51.89, H 6.14, Rb 16.81.

Gef. » 51.69, » 6.57, » 17.24.

Das viertelsaure Caesiumsalz krystallisiert in fächerförmig angeordneten, ziemlich derben Prismen und verhält sich gegenüber Lösungsmitteln wie das Rubidiumsalz.

0.1771 g Subst. (bei 105° getrocknet): 0.3674 g CO₂, 0.0980 g H₂O. — 0.2981 g Subst.: 0.1797 g Cs₂PtCl₆¹⁾.

C₂₂H₃₁O₈ Cs. Ber. C 47.47, H 5.62, Cs 23.90.

Gef. » 47.34, » 6.19, » 23.80.

Gegen Reagenzien ist die Säure C₂₂H₃₂O₈ sehr beständig: 2 g Säure C₂₂H₃₂O₈ in 80 ccm 75-prozentiger Essigsäure wurden mit 2 g Chromsäure in 40 ccm 50-prozentiger Essigsäure versetzt, und die Mischung am absteigenden Kühler zum Sieden erhitzt. Eine Reduktion der Chromsäure fand nicht statt; Aceton oder der »riechende Stoff« waren im Destillat nicht nachweisbar; aus der essigsäuren Lösung wurde die Säure C₂₂H₃₂O₈ unverändert zurückgewonnen. Dieser Versuch zeigt, daß das Aceton tatsächlich aus den drei bei der Oxydation von C₂₅H₄₀O₆ zu C₂₂H₃₂O₈ abgespaltenen Kohlenstoffatomen hervorgeht und nicht etwa durch eine weitergehende Oxydation von C₂₂H₃₂O₈ gebildet wird. Die Tatsache, daß die Säure C₂₂H₃₂O₈ auch den »riechenden Stoff« nicht mehr zu liefern vermag, macht es wahrscheinlich, daß auch bei seinem Aufbau der Isopropylrest beteiligt ist (Isoamylmethylketon?).

Auch gegen konzentrierte Salpetersäure, sowie gegen Kaliumpermanganat ist die Säure C₂₂H₃₂O₈ sehr widerstandsfähig. Von Ozon wird sie selbst bei lang dauernder Einwirkung gar nicht angegriffen. Für das Vorhandensein einer Doppelbindung in C₂₂H₃₂O₈ liegen also keine Anhaltspunkte vor.

¹⁾ Für die Bestimmung des Rubidiums und des Caesiums eignet sich am besten die Fällung als Chloroplatinat. Hierbei bin ich folgendermaßen verfahren: Das Rubidium- bzw. Caesiumsalz wird in wenig salzsäurehaltigem Alkohol gelöst und mit einem geringen Überschuß einer konzentrierten Platinchloridlösung versetzt. Hierbei fällt das Chloroplatinat in krystallisierter, leicht filtrierbarer Form heraus. Durch nachträglichen Zusatz von absolutem Alkohol wird die Fällung zu einer vollständigen. (Gibt man sofort vor der Fällung viel absoluten Alkohol hinzu, so fällt besonders das Caesiumchloroplatinat als äußerst feines, schlecht filtrierbares Pulver aus). Das abgeschiedene Chloroplatinat wird auf einen Goochtiigel filtriert, mit Alkohol ausgewaschen, bei 105° getrocknet und gewogen.