XLIX.

Beiträge zur Kenntniss des Cholesterins.

Von

Dr. O. Lindenmeyer.

(Auszug aus d. Inaugural-Dissertation d. Verf. Tübingen, Aug. 1863.)

Das Cholesterin hat trotz der Leichtigkeit, mit welcher es in völlig reinem Zustande gewonnen werden kann, viele Schwierigkeiten hinsichtlich seiner Bildungs- und Zersetzungsweise im thierischen Körper, sowie hauptsächlich seiner chemischen Constitution geboten.

Sein Vorkommen ist ein ausserordentlich verbreitetes, da es abgesehen von den Steinen, welche sich so häufig in der menschlichen Gallenblase vorfinden, auch als constanter Bestandtheil der Galle des Menschen und aller Thiere, des Blutes, des Nervenmarkes, der Transsudate, des Eiters und des Eidotters bekannt ist. In älteren Transsudatensammlungen in verschiedenen Körperhöhlen findet es sich in krystallisirtem Zustande in den Flüssigkeiten schwimmend und oft so reichlich, dass die ganze Masse einen Brei darstellt. Ebenso tritt es im Smegma und den Balggeschwülsten der Haut und in den Residuen alter Exsudate und verfetteter Gewebe, käsiger Tuberkelmasse auf, besonders deutlich erkennbar bei gewissen Linsenstaaren in der Substanz der Linse selbst. — Die Fette des Fettgewebes enthalten dagegen kaum Spuren davon im normalen Zustande, wie man sich durch die Untersuchung dieser Fette im Polarisationsapparat überzeugen kann; während es andererseits in allen Fällen die Amyloidensubstanzen begleitet, soweit diese in der Beziehung Gegenstand der Untersuchung waren.

Ueber die Bildung des Cholesterins ist etwas Sicheres nicht ermittelt, doch spricht das stete Vorkommen desselben in eiweissreichen Flüssigkeiten, sowie sein constantes Auftreten in der Galle mit aller Bestimmtheit für die Entstehung des Cholesterins aus Eiweissstoffen. Man findet gerade

diejenigen alten Flüssigkeitsansammlungen, die als Hydrocele oder Ovarialcysten mit einer dichten Bindegewebskapsel oder gar Knochenkapsel umgeben, durch die spärlichen Capillaren in den Wandungen dieser Säcke nur einen minimalen Austausch mit dem Blut haben konnten, besonders reich an Cholesterin, und es ist um so weniger daran zu denken, dass das hier abgelagerte Cholesterin von aussen hereingekommen sei, als man die Möglichkeit einer Diffusion dieses Körpers überhaupt noch gar nicht nachgewiesen hat, im Gegentheile das mit der Galle in den Darm gelangte Cholesterin wenigstens grossentheils entleert und nicht wieder aufgenommen wird.

Wie nahe die Bildung des Cholesterins mit bestimmten Zersetzungen der Eiweisskörper im Zusammenhange stehen muss, wird sehr deutlich wieder durch die neueren Entdeckungen Beneke's*) erwiesen, welche das früher den Thieren allein vindicirte Cholesterin auch als Bestandtheil verschiedener Samen als Erbsen, Bohnen, Mandeln etc. kennen lehrten. Auch hier finden wir also das Cholesterin in Begleitung grosser Quantitäten von Eiweisstoffen. Auch das constante Vorkommen des Cholesterins in der Galle bei reiner Fleischnahrung lässt eine andere Erklärung nicht wohl zu. — So sicher es aber auch zu sein scheint, dass das Cholesterin seinen Ursprung aus den Eiweisstoffen herleitet, so lässt sich doch über die Art und Weise dieses Processes noch keine Andeutung finden, schliesslich ist auch seine Bildung eine sehr langsame. — Wenn auch Beneke's Behauptung, dass das Cholesterin sich stets in Begleitung des Myelins finde, nicht in allen Fällen zutrifft (in Excrementen findet sich kein, in Transsudaten, in Kropf- und Ovarialcysten höchstens Spuren von Myelin), so erscheint doch das häufige gemeinsame Auftreten beider nicht ohne Bedeutung, und es wäre immerhin möglich, dass das Cholesterin aus diesem Körper sich bildete.

Ich stellte eine grössere Quantität von Cholesterin aus

*) Beneke, Studien über das Vorkommen, die Verbreitung und die Function von Gallenbestandtheilen in den thierischen und pflanzlichen Organismen. Giessen 1862.

Gallensteinen dar, nach der allgemein angewandten Methode: durch Auskochen der gepulverten mit Wasser wiederholt gewaschenen Gallensteine mit Alkohol, Abfiltriren und Auspressen des beim Erkalten ausgeschiedenen Cholesterins, nochmaliges Kochen mit ätzkalihaltigem Alkohol und Auswaschen nach dem Erkalten mit Alkohol und Wasser.

Hinsichtlich der Lösungsverhältnisse wurde nur das Verhalten zu Chloroform untersucht. Es zeigte sich, dass 1 Theil Cholesterin in 6,650 Th. Chloroform bei $+20^{\circ}$ C. löslich ist.

Wie Prof. Hoppe es beschrieben, zeigt das Cholesterin eine nicht unbedeutende linksseitige Circumpolarisation. Eine neue Bestimmung nach der Broch'schen Methode ergab bei einer 10 Grm. Cholesterin in 100 C.C. Lösung (in Steinöl) und bei einer zweiten von 7,941 Grm. in 100 C.C. Lösung (in Aether) folgende spec. Drehungen für die einzelnen Fraunhofer'schen Linien:

B.	C.	D.	E.	b.	F.	G.
20,63°	25,54°	31,59°	39,91°	41,92°	48,65°	62,37°

Da die spezifische Drehung des Cholesterins nicht abhängig von Temperatur und Concentration ist, so hat dieselbe besondere Wichtigkeit für den Nachweis und die quantitative Bestimmung dieses Körpers in Gemengen, aus denen seine völlige und quantitative Isolirung bis jetzt noch geradezu zu den Unmöglichkeiten gehört hat. So gelingt es im Leberthran, im Mandelöl, sowie in verschiedenen anderen Flüssigkeiten das Cholesterin schnell zu bestimmen; und es kann diess zugleich zur Unterscheidung dieser Oele von anderen, als Mohnöl, Sesamöl, Olivenöl, Rapsöl etc., benutzt werden, da diese keine Linksdrehung zeigen.

Die Circumpolarisation sollte nun auch benutzt werden, um zu prüfen, ob bei der Ausbildung der Samen eine Zunahme des Cholesterins in denselben sich zeige. Es wurden zu diesem Zweck die noch grünen unreifen und ebenso die reifen Erbsen derselben Varietät und auf demselben Acker gewachsen, in der Weise verglichen, dass dieselben gezählt, gewogen und zerstoßen mit ätherhaltigem Alkohol mehrmals ausgezogen, ausgepresst, die Extracte abgedampft

und der Rückstand mit Aether und Wasser behandelt wurde. Der abgehobene Aetherauszug wurde mit Thierkohle möglichst entfärbt, der Aether abdestillirt, der Rückstand in wenig ätherhaltigem Alkohol gelöst und im Ventzke'schen Saccharometer geprüft. — Trotz ihres Chlorophyllgehalts entfärbten sich die Auszüge der unreifen Erbsen leichter, als die der reifen, welche einen gelben Farbstoff durchaus nicht an die Kohle abtreten wollten. Die Untersuchung ergab das unerwartete Resultat, dass alle Flüssigkeiten nicht unbedeutende Rechtsdrehung zeigten, durch die Anwesenheit einer Substanz, die noch gänzlich räthselhaft ist. Es musste wegen dieses unerwarteten Hindernisses ein anderer Weg eingeschlagen werden.

Die Flüssigkeiten wurden mit alkoholischer Kalilauge etwa $\frac{3}{4}$ Stunden im Kochen erhalten, dann der Alkohol verdunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit mehreren Portionen Aether zusammengeschüttelt. Nachdem der Aether abgegossen war, hinterliess er beim Abdestilliren das Cholesterin nur mit geringen Mengen eines gelben Farbstoffs verunreinigt. Durch Abwaschen mit kleinen Mengen kalten Alkohols kann nöthigenfalls diese Beimengung leicht entfernt und das rein hinterbleibende Cholesterin getrocknet und gewogen werden.

Dasselbe zeigte im Soleil-Ventzke'schen Apparat eine Drehung, welche eine specifische Drehung

$$(\alpha)_j = -32,5^{\circ}$$

berechnen lässt.

Diese specifische Drehung stimmt also so nahe mit der für gelbes Licht bei dem aus Gallensteinen gewonnenen Cholesterin überein, dass sie einen weiteren nicht unwichtigen Beitrag zur Bestimmung der Identität des aus thierischen Substanzen und des aus Erbsen gewonnenen Körpers liefert.

Die Untersuchungen waren mit 2 verschiedenen Sorten von Erbsen angestellt und von jeder Sorte eine der Menge von 2500 Grm. nahestehende Quantität von reifen und eben so viele unreife verwendet worden.

Es zeigten dabei

	von der ersten Sorte:		von der zweiten Sorte:	
	die Unreifen.	die Reifen.	die Unreifen.	die Reifen.
Wasser	62 p.C.	10,52 p.C.	63,36 p.C.	15,85 p.C.
Feste Substanz	38 „	89,48 „	36,64 „	84,15 „

Es fand somit in der zweiten Hälfte der Reifezeit eine Vermehrung statt, die für die feste Substanz der Erbse überhaupt betrug:

Bei der ersten Sorte:	Bei der zweiten Sorte:
51,48 p.C.	20,51 p.C.

Der Gehalt dieser festen Substanz von Cholesterin betrug:

Erste Sorte:		Zweite Sorte:	
Bei den Unreifen.	Bei den Reifen.	Bei den Unreifen.	Bei den Reifen.
0,026	0,051	0,024	0,059

Es betrug somit die Vermehrung des Cholesterins während der Periode des Reifens:

Erste Sorte:	Zweite Sorte:
0,025 p.C.	0,035 p.C.

Noch anschaulicher werden diese Verhältnisse, wenn man sie auf die einzelne Erbse oder der Kürze der Zahlen wegen auf 1000 Stück berechnet.

Für 1000 Stück Erbsen beträgt das Durchschnittsgewicht:

	Erster Sorte:		Zweiter Sorte:	
	Unreife.	Reife.	Unreife.	Reife.
	Grm.	Grm.	Grm.	Grm.
der festen Substanzen	190	255	289,5	341
des Cholesterins	0,051	0,133	0,075	0,200

Es ergibt sich also aus diesen Untersuchungen, dass die Bildung des Cholesterins in einer früheren Periode der Ausbildung des Samens beginnend, erst in der Nähe der Reife ihre Höhe erreicht; und zwar ergibt sich aus letzteren Werthen die ausserordentliche Zunahme des Cholesterins, welche beim Reifen in der ersten Sorte $\frac{2}{3}$ des ganzen Cholesteringehalts, bei der zweiten $\frac{5}{8}$ desselben entstehen liess, während die Zunahme der übrigen festen Substanzen in einer bei weitem geringeren Höhe blieb. — Was nun noch die Methode der Untersuchung betrifft, so stellt es sich

heraus, dass wegen des erwähnten rechtsdrehenden Körpers die Circumpolarisation hier vorerst noch nicht anwendbar ist. Ebensowenig ist aber auch Beneke's Methode zu empfehlen*).

Nach den bei meiner Arbeit gemachten Erfahrungen dürfte Folgendes wohl die sicherste Art der Untersuchung abgeben:

Die Samen werden fein zerstoßen mit Alkohol, dem ein Viertel seines Volums Aether beigemischt ist, 48 Stunden macerirt, hierauf ausgepresst und abermals mit Alkohol, der ein Achtel seines Volums Aether enthält, 24 Stunden lang extrahirt und abgepresst. Letztere Extraction wird nach Befinden noch einige Male wiederholt und die vereinigten Auszüge abdestillirt. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und mit wiederholt erneuerten Portionen Aether geschüttelt und abgegossen. Die so erhaltene ätherische Lösung wird jetzt abdestillirt, der Rückstand mit alkoholischer Kalilauge eine Stunde lang gekocht und hierauf zur Trockne verdunstet. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und wiederholt mit Aether zusammengeschüttelt. Die klar abgezogenen ätherischen Lösungen hinterlassen nun das Cholesterin beim Abdestilliren des Aethers mit einer geringen Beimengung eines gelben Farbstoffes, der durch Waschen mit schwachem Alkohol leicht entfernt wird.

Natriumcholesterylal.

Obwohl durch die ausgezeichnete Untersuchung Chevreul's**) die Zusammensetzung des Cholesterins und seine wichtigsten Eigenschaften bereits seit langer Zeit ermittelt waren, blieb doch die Constitution desselben völlig räthselhaft, bis zuerst von Gerhardt***) die Ansicht ausgesprochen wurde, das Cholesterin möge ein Alkohol sein. Gerhardt ging jedoch nicht weiter und erst Berthelott†)

*) Beneke, Studien etc.

**) Ann. de Chimie XCV.

**) Gerhard, Traité de Chim. org. III, 1854.

†) Ann. de Chim. et Phys. Ser. III. LVI.

nahm diese Vermuthung auf und ermittelte dass man Verbindungen des Cholesterins mit organischen Säuren darstellen könne, analog den Verbindungen der einatomigen Alkohole.

Später fand Planer*), dass durch Einwirkung von Phosphorsuperchlorid auf Cholesterin ein chlerhaltiger krystallinischer Körper erhalten werde, der nach Eigenschaften und Zusammensetzung als Chlorid des Cholesterinradicals $C_{26}H_{43}Cl$ angesehen werden könne.

Während nun die Untersuchungen von Berthelot und Planer nach der einen Seite hin, nämlich in Hinsicht der Verbindungen mit Chlor oder Säuren die Aehnlichkeit des Cholesterins mit Alkoholen dargethan hatten, blieb doch bis jetzt die andere Seite der allgemeinen Eigenschaften der Alkohole: ihre Aufnahme von Metallen an die Stelle von Wasserstoff noch ununtersucht. — Es gelang mir, die Verbindung des Cholesterins mit Natrium als eine schön krystallisirende Substanz darzustellen und zu isoliren.

Rectificirtes Steinöl wurde mit blanken Natriumstücken stehen gelassen, so lange Spuren von Gasentwicklung zu bemerken waren und dann in völlig getrockneten Apparaten abdestillirt. Im Destillat wurde sorgfältig getrocknetes Cholesterin bis zur Sättigung gelöst, unter Steinöl gereinigtes Natrium eingetragen und bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Es stellte sich bald H-Entwicklung und Bildung eines weissen festen Ueberzugs über die Natriumstücken ein. Dieselben mussten häufig durch Schütteln davon befreit werden. Sobald sich nach längerem Stehen kein Ueberzug mehr bildete, wurde abfiltrirt, zwischen Fliesspapier und Ziegelsteinen, die zuvor scharf getrocknet waren, gepresst und über SO_3 stehen gelassen bis zum Gebrauch. — Aus wasserfreiem Chloroform kann das in feinen Nadeln krystallisirende Natriumcholesterylal umkrystallisirt werden, doch ist es darin sehr leicht löslich und scheidet sich, wenn die concentrirte Lösung in Eis gesetzt wird, in denselben feinen seideglänzenden Nadeln aus, wie bei der Bildung in Steinöl. (Auch das Cholesterin selbst krystalli-

*) Ann. der Chem. u. Pharm. CXVIII.

sirt, wasserfrei, aus Chloroform und Steinöl in solchen feinen Nadeln. Durch Wasser wird diese Natriumverbindung nur langsam zersetzt, da sie davon nicht gelöst wird, allmählich bekommt übrigens das aufgegosene Wasser alkalische Reaction. Giesst man schwachen Alkohol auf, so erfolgt die Zerlegung sehr schnell.

Erhitzt schmilzt das Natriumcholesterylal bei $+150^{\circ}\text{C}$. und zersetzt sich bei $+180^{\circ}\text{C}$.

Die Analyse gab folgende Werthe:

- I. 0,2560 Grm. Substanz gaben 0,2569 Grm. Wasser und 0,7427 Grm. CO_2 .
- II. 0,2160 Grm. Substanz gaben 0,2136 Grm. Wasser und 0,6278 Grm. CO_2 .
- III. 0,2102 Grm. Substanz gaben 0,0291 Grm. Na_2O .
- IV. 0,3508 Grm. Substanz gaben 0,0563 Grm. Na_2O .

Hieraus ergeben sich:

	Berechnet.		Gefunden.		
C_{26}	79,19 p.C.	79,13	79,26	—	—
H_{43}	10,91 „	11,15	10,98	—	—
Na	5,84 „	—	—	4,48	5,20
O	—	—	—	—	—

Der Natriumgehalt wurde stets etwas zu niedrig gefunden, wohl wegen Combination zweier Fehler: der geringen Verflüchtigung beim Verkohlen und Glühen des schwefelsauren Salzes und der schwer ganz zu beseitigenden Spuren von Steinöl.

Essigsäures Cholesterin.

Das Natriumcholesterylal giebt mit frischem Acetylchlorid unter mässiger Bräunung Chlornatrium und eine Verbindung, die nach Abscheidung des überschüssigen Cholesterins durch wiederholtes Auskochen mit Alkohol in Aether gelöst wurde und daraus bei langsamer Krystallisation in moosähnlichen Formen sich ausscheidet. Diese Krystalle geben mit alkoholischer Kalilösung gekocht, zur Trockne verdunstet und mit Wasser ausgezogen, nachweisbar essigsäures Kali daran ab, während Cholesterin zurückbleibt und aus kochendem Alkohol umkrystallisirt in den gewöhnlichen Tafeln erscheint. Es darf somit ange-

nommen werden, dass die oben erwähnten moosartigen Krystalle aus essigsauerm Cholesterin bestanden.

Cholesterylchlorid.

Nach Planer's Angabe wurde trocknes Cholesterin mit Phosphorsuperchlorid behandelt. Bei gewöhnlicher Temperatur aber, wie Planer angiebt, erhielt ich nach 3 Stunden noch keinerlei Einwirkung, dagegen erfolgte dieselbe sofort beim Erwärmen auf $+33^{\circ}$ C. und setzte sich nun von selbst fort. Es wurde nun zur Entfernung der reichlich auftretenden ClH und des grösseren Theils von Phosphoroxychlorid mehrere Stunden auf einer Temperatur von $+90$ bis 100° C. erhalten und nun mit Wasser mehrmals ausgekocht. Es hinterblieb eine reine Masse, die beim Erkalten krystallinisch erstarrte und in Aetherweingeist von starkem Aethergehalt sich völlig löste. Bei langsamer Verdunstung aber setzten sich jetzt zwei verschiedene Körper ab, der eine farblos krystallinisch, der andere amorph, braun und harzartig. Beide konnten durch kochenden absoluten Alkohol, worin nur der krystallisirte Körper sich löste, getrennt werden. Beim Erkalten des von dem braunen Rückstand abgegossenen Alkohols schoss das Cholesterylchlorid in nadelförmigen Krystallen an, welche noch schöner aus einer ätherweingeistigen Lösung erhalten wurden. Da Planer den Körper schon analysirt hatte, beschränkte ich mich auf eine Chlorbestimmung: 0,322 Grm. Substanz gaben 0,1395 Grm. AgCl.

	Berechnet.	Gefunden.
Cl	9,09 p.C.	10,7 p.C.

Der gefundene Ueberschuss an Cl dürfte von einer kleinen Beimengung des ebenfalls stark Cl-haltigen braunen Körpers herrühren, dessen Analyse ich wegen Zeitmangel umgehen musste.

Durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge wurde auch hier eine Zerlegung in der Art erreicht, dass sich nach dem Verdunsten auf dem Wasserbad und Behandeln des Rückstandes mit Wasser und dann mit kochendem Alkohol in ersterem KCl und in letzterem die Krystalle des Cholesterins unzweifelhaft nachweisen liessen.

Cholesteryläther.

Natriumcholesterylát wurde mit Jodäthyl im Aequivalentverhältniss in einer zugeschmolzenen Röhre mehrere Tage lang auf $+100^{\circ}$ C. erhitzt. Es wurde so eine krystallinische Masse erhalten, welche mit Wasser und Aether behandelt an ersteres nachweisbar Jodnatrium abgab, während der Aether den Rest der Substanz aufnahm. Aus der ätherischen Lösung krystallisirte nun in Tafelform ein Körper, dessen Krystalle beim Trocknen bei $+105^{\circ}$ C. einen constanten Wasserverlust von 5,2 p.C. zeigten. Es wurden mehrere Analysen gemacht, deren beste Werthe gab, welche durchaus nicht mit der Formel eines Aethylcholesterins übereinstimmen, sondern mit dem Aether des Cholesterins. Schmelzpunkt 141° C.

Es wurde nun noch die Darstellung des Cholesteryläthers versucht durch Behandeln des Natriumcholesterylats mit dem oben beschriebenen Cholesterylchlorid in zugeschmolzenen Röhren bei $+100^{\circ}$ C. Nach mehrstündiger Behandlung wurde die Röhre geöffnet, der Inhalt mit Wasser und Aether behandelt und die wässrige Lösung auf Chlornatrium geprüft, das sich auch darin vorfand.

Die in Aether gelöste Masse wurde verdunstet und zur Entfernung von anhängendem Cholesterin mit Alkohol ausgekocht. Ein Theil der Masse zeigte sich in kochendem Alkohol unlöslich und blieb als geschmolzene Masse darunter stehen. Nachdem der Alkohol davon abgegossen war, wurde sie in Aether gelöst und zeigte hier beim Verdunsten eine dem Cholesterin ganz ähnliche Krystallisation. Die Krystalle schmolzen bei $+71^{\circ}$ C. Dieser Schmelzpunkt, welcher mehrmals sorgfältig geprüft und bestätigt wurde, unterscheidet diesen Körper nicht nur mit aller Sicherheit vom Cholesterin selbst, sondern ebenso von der Substanz, welche zuerst als Aethylcholesterin angesehen wurde (s. oben) und doch nach obiger Analyse die Zusammensetzung des Cholesteryläthers ergab.

War es mir auch jetzt nicht möglich, alle oben erwähnten Körper zu analysiren, so glaube ich doch, dass namentlich durch die Darstellung des Natriumcholesterylats die

Ansicht, dass das Cholesterin ein einatomiger Alkohol sei, damit weiterhin bestätigt ist.

Es ist diess der erste Repräsentant dieser Classe, der sich im Thierkörper und in Pflanzen fertig gebildet vorfindet. — Die immer fortschreitende Aufklärung seiner Constitution lässt hoffen, dass auch die Art seiner Bildungsweise bald aus dem Reiche der Räthsel verschwinden werde.

L.

Ueber Essigsäure-Cholesterin.

Von

Dr. O. Lindenmeyer.

Beneke hat kürzlich (Ann. der Chem. u. Pharm. CXXVII, 105) auf die Löslichkeit des Cholesterin in heissem Eisessig aufmerksam gemacht und dabei angegeben, dass bei dem Erkalten der Lösung das Cholesterin sich in Krystallen wieder ausscheide, welche von den bekannten Krystallen des Cholesterins $C_{26}H_{43}O, H_2O$ verschieden sind. In der Meinung, dass die sich unter solchen Verhältnissen abscheidenden Krystalle mit denen des wasserfreien Cholesterins, wie man sie beim Erkalten des geschmolzenen oder in heissem Steinöl gelöst entwässerten Cholesterins erhält, identisch sein möchten, veranlasste ich Herrn Dr. Zalesky aus Charkow, die aus der Eisessiglösung ausgeschiedenen Krystalle einer Untersuchung zu unterwerfen. Es zeigte sich, dass das Cholesterin von kochendem Eisessig in sehr reichlicher Quantität gelöst wird und die gesättigte Lösung beim Erkalten zu einer krystallisirten Masse völlig erstarrt. Die Krystalle erwiesen sich unter dem Mikroskop als vierseitige oft ziemlich lange dünne Nadeln, man konnte sie jedoch nur in Eisessig untersuchen, denn selbst in stärkstem Alkohol wurden sie bald undurchsichtig und verschwanden allmählich, während sich reichlich Tafeln des wasserhaltigen Cholesterins ausschieden.