Zur Kenntnis des Cholesterins III;¹⁾von *L. Tschugaeff* und *P. Kock*.(Mitteilung aus dem chemischen Laboratorium der k. Universität
St. Petersburg.)

(Eingelaufen am 23. Oktober 1911.)

Bekanntlich herrscht noch große Unsicherheit über die Anzahl der Äthylenbindungen im Molekül des Cholesterins $C_{27}H_{45}OH$ und seiner unmittelbaren Derivate.

Da Cholesterin und seine Ester immer je 2 Atome Chlor oder Brom unter Bildung von charakteristischen, schön krystallisierenden Derivaten aufnehmen, hat man bis vor kurzem²⁾ auf Vorhandensein von nur einer Äthylenbindung im Cholesterinmolekül geschlossen.

Neuerdings haben aber Molinari³⁾ und namentlich Dorée⁴⁾ gezeigt, daß von jedem Cholesterinmolekül 2 Moleküle Ozon gebunden werden, ein Ergebnis, das nach den schönen Untersuchungen von Harries⁵⁾ auf 2 Äthylenbindungen hindeuten sollte. Ganz ähnlich bindet auch Cholestenon, das dem Cholesterin entsprechende Keton, 2 Mol. Ozon und außerdem noch ein Atom Sauerstoff, wie solches auf Grund der Beobachtungen von Harries ebenfalls zu erwarten war. Ferner bindet die aus Cholesterin durch Oxydation mit Kaliumhypobromit erhaltliche Säure⁶⁾ $C_{27}H_{44}O_4 =$

¹⁾ II. Mitteilung diese Ann. **375**, 288 (1910).

²⁾ Vgl. z. B. A. Windaus, Arch. Pharm. **246**, 117 (1908).

³⁾ Molinari und Fenaroli, Ber. d. d. chem. Ges. **41**, 2785 (1908).

⁴⁾ Journ. chem. Soc. **95**, 638 (1909).

⁵⁾ Diese Annalen **343**, 311 (1905); **374**, 311 (1910).

⁶⁾ Diels und Abderhalden, Ber. d. d. chem. Ges. **36**, 3179 (1903); **37**, 3092 (1904).

ebenfalls 2 Mol. Ozon und noch 2 Atome Sauerstoff, entsprechend den 2 Karboxylen.

Danach scheint im Cholesterin außer der seither angenommenen Doppelbindung noch eine zweite ungesättigte Bindung vorhanden zu sein, über deren Natur man aber noch vollkommen im Dunkeln ist. Jedenfalls läßt sich aber diese zweite Bindung viel schwerer auflösen als die erste, denn die Fähigkeit 1 Mol. Ozon zu fixieren, bleibt noch im Hydrierungsprodukt des Cholesterins, dem Dihydrocholesterin $C_{27}H_{47}OH$ (β -Cholestanol) erhalten.¹⁾

Diese merkwürdigen Verhältnisse werden noch dadurch wesentlich kompliziert, daß die Anzahl der von einem bestimmten Glied der Cholesteringruppe fixierten Ozonmoleküle in gewissem Grade von den Versuchsbedingungen abzuhängen scheint. So z. B. bindet nach Diels²⁾ Cholesterin nicht 2, sondern 1 Mol. Ozon und noch ein supplementäres Sauerstoffatom. Andererseits sei hier noch darauf hingewiesen, daß das Dihydrocholestanon nicht ein, sondern 2 Mol. Ozon + 1 Atom O fixiert, was mit dem eben erwähnten Verhalten des entsprechenden Alkohols (Dihydrocholesterin) jedenfalls in Widerspruch steht.

Wegen dieser teils unsicheren, teils einander widersprechenden Literaturangaben schien es uns von Interesse, der Frage nach der Anzahl der Doppelbindungen im Cholesterinmolekül auf einem anderen, nämlich auf spektrochemischem Wege näher zu treten.

Über die Refraktion des Cholesterins haben wir in der einschlägigen Literatur nur eine einzige, von J. Kannonnikoff³⁾ herrührende Angabe gefunden, und zwar kommt dieser verdienstvolle Forscher auf Grund von

¹⁾ Desto bemerkenswerter erscheint das Verhalten des α -Cholestanols, welchem die Fähigkeit, Ozon aufzunehmen, vollkommen abgeht.

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 41, 2596 (1908).

³⁾ Journ. d. Russ. phys.-chem. Ges. 15, 475 (1883). Wiss. Nachrichten der Universität zu Kasan. 1883, II.

zwei Bestimmungen (in Benzol- und Chloroformlösung) zum Schlusse, daß im Cholesterin eine der aromatischen Reihe zugehörnde Substanz vorliege mit 4 Äthylenbindungen im Molekül. Da er aber zu seinen Berechnungen sich der jetzt mit gutem Recht verworfenen Cholesterinformel $C_{26}H_{44}O$ bediente, so ist diese Schlußfolgerung, die auch sonst mit dem seither bekannt gewordenen Verhalten des Cholesterins kaum in Einklang zu bringen ist, nicht mehr als stichhaltig zu betrachten.¹⁾

Unsere eigenen Messungen sind an den folgenden Körpern der Cholesteringruppe ausgeführt worden: *Cholesterin*, *Cholestan* $C_{27}H_{48}$, *Cholesten* $C_{27}H_{46}$, *Cholesterylen* (α) $C_{27}H_{44}$, *cholesterylxanthogensaures Methyl* $C_{27}H_{45}OCSSCH_3$ u. *dihydrocholesterylxanthogensaures Methyl* $C_{27}H_{47}OCSSCH_3$. Unser Cholesterinpräparat stammte von Kahlbaum und wurde durch wiederholtes Umkrystallisieren gereinigt und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Zur Darstellung des Cholestens befolgten wir genau die Vorschrift von Mauthner und Suida²⁾. Das Cholestan wurde nach dem Verfahren von Willstätter und Mayer³⁾ aus α -Cholesterylen⁴⁾ hergestellt und die übrigen Präparate nach den im hiesigen Laboratorium ausgearbeiteten Methoden.⁴⁾ Von denselben ist das dihydrocholesteryl-xanthogensaure Methyl noch nicht beschrieben worden, was aber demnächst geschehen soll.

Sämtliche Substanzen mußten wegen ihres verhältnismäßig hohen Schmelzpunktes in Lösung und zwar meistens in ziemlich verdünnter Lösung untersucht werden. Die

¹⁾ Da leider die betreffende Stelle der Kanonnikoffschen Abhandlung durch einen Druck- oder Schreibfehler entstellt zu sein scheint, ist es uns leider unmöglich gewesen, die Originalzahlen zu einer entsprechenden Umrechnung zu benutzen.

²⁾ Monath. f. Chem. 15, 86 (1894).

³⁾ Ber. d. d. chem. Ges. 41, 1475 (1908).

⁴⁾ L. Tschugaeff und A. Gasteff, Ber. d. d. chem. Ges. 42, 4631 (1909); L. Tschugaeff und W. Fomin, diese Annalen 375, 288 (1910).

dadurch bei der Berechnung der spezifischen Refraktion entstehenden Versuchsfehler werden bei der Multiplikation mit dem hohen Molekulargewicht noch bedeutend vergrößert. Wir mußten daher auf die möglichst große Genauigkeit der Messungen ganz besondere Sorgfalt legen.

Die Refraktionsindizes wurden mit einem Pulfrich-Zeißschen Refraktometer, das noch 5 Einheiten der fünften Dezimale zu bestimmen gestattete, für die Natriumlinie D und die Wasserstofflinie α gemessen.

Die Dichtemessungen führten wir meistens mit einem etwa 9 ccm fassenden Pyknometer aus. Die Temperatur der Messungen wurde genau auf 20° mit Hilfe eines geeichten, in $\frac{1}{10}^{\circ}$ eingeteilten Thermometers eingestellt.¹⁾ Sämtliche Wägungen wurden auf den luftleeren Raum reduziert und die Dichten auf Wasser von 4°C bezogen. Die Dichtemessungen konnten ebenfalls auf 5 Einheiten der fünften Dezimale genau ausgeführt werden. Als Lösungsmittel wurde durchweg bestes Benzol von Kahlbaum benutzt, das zur Reinigung mit Natrium gekocht und sorgfältig fraktioniert wurde. Es zeigte $d_4^{20} = 0,87864$.

Nach jeder Messungsreihe wurden die Konstanten des Benzols von neuem bestimmt und die erhaltenen Zahlen zur Berechnung der Molekularrefraktion des aufgelösten Körpers benutzt. Die Dichte zeigte hierbei keine nennenswerten Schwankungen, und auch die Refraktionsindizes blieben während der ganzen Versuchsreihe fast genau konstant (vgl. Tabelle I).

Die Berechnung der spezifischen Refraktion R geschah nach der Formel

$$R = \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \times \frac{1}{d} - \frac{n_1^2 - 1}{n_1^2 + 2} \times \frac{1}{d_1} \times \frac{100 - p}{100} \right) \frac{100}{p},$$

in welcher n und d den Refraktionsindex und die Dichte der Lösung, n_1 und d_1 den Refraktionsindex und die Dichte des Lösungsmittels und p den Gehalt der Lösung an gelöster Substanz in Gewichtsprozenten bedeuten.

¹⁾ Beim Refraktometer wurde die Temperatur mit Hilfe einer Wasserbadvorrichtung konstant erhalten.

Tabelle I.

Substanz	Benzol			Lösung			
	d_1	n_1 für die α -Linie	n_1 für die D -Linie	p	d	n für die α -Linie	n für die D -Linie
Cholesterin $C_{27}H_{46}OH$	0,87864	1,49606 1,49606	1,50090 1,50090	6,018 6,628	0,88420 0,88476	1,49699 1,49699	1,50165 1,50170
α -Cholesterylen $C_{27}H_{44}$	"	1,49615 1,49615	1,50086 1,50095	6,639 10,412	0,88340 0,88612	1,49746 1,49831	1,50207 1,50290
Cholesten $C_{27}H_{46}$	"	1,49615 1,49615	1,50100 1,50100	10,104 17,979	0,88426 0,88912	1,49671 1,49732	1,50113 1,50182
Cholestan $C_{27}H_{48}$	"	1,49615	1,50086	6,151	0,88164	1,49615	1,50076
Cholesteryl-xantho- gensaures Methyl $C_{27}H_{45}OCSSCH_3$	"	1,49615 1,49615	1,50095 1,50095	6,772 11,355	0,88830 0,89506	1,49905 0,50087	1,50366 1,50561
Dihydrocholesteryl- xanthogensaures Me- thyl $C_{27}H_{47}OCSSCH_3$	0,87862	1,49624 1,49624	1,50095 1,50095	10,987 15,665	0,89386 0,90056	1,50027 1,50212	1,50482 1,50663

Tabelle II.

Substanz		Linie α			Linie D		
		I	II	Mittelwert	I	II	Mittelwert
Cholesterin $C_{27}H_{46}OH$	R MR	0,3065 118,42	0,3057 118,10	0,3061 118,26	0,3073 118,71	0,3069 118,58	0,3071 118,65
α -Cholesterylen $C_{27}H_{44}$	R MR	0,3167 116,66	0,3172 116,86	0,3170 116,76	0,3184 117,30	0,3187 117,38	0,3186 117,34
Cholesten $C_{27}H_{46}$	R MR	0,3146 116,52	0,3144 116,44	0,3145 116,48	0,3161 117,07	0,3159 116,98	0,3160 117,03
Cholestan $C_{27}H_{48}$	R MR	0,3142 117,00	— —	0,3142 117,00	0,3158 117,60	— —	0,3158 117,60
Cholesteryl-xantho- gensaures Methyl $C_{27}H_{45}OCSSCH_3$	R MR	0,3033 144,55	0,3019 143,86	0,3026 144,21	0,3040 144,85	0,3039 144,89	0,3040 144,84
Dihydrocholesteryl- xanthogensaures Me- thyl $C_{27}H_{47}OCSSCH_3$	R MR	0,3014 144,27	0,3017 144,34	0,3016 144,31	0,3030 144,98	0,3032 145,08	0,3031 145,03

Tabelle III.

Substanz	Linie α					Linie D				
	MR gefunden	MR berechnet nach Brühl	Δ'	MR berechnet nach Eisenlohr	Δ''	MR gefunden	MR berechnet nach Conrady	Δ'	MR berechnet nach Eisenlohr	Δ''
Cholesterin $C_{27}H_{45}OH$	118,26	117,94	+0,32	118,59	-0,33	118,65	119,10	-0,45	119,15	-0,50
Cholesterylen $C_{27}H_{44}$	116,76	116,06	+0,70	116,57	+0,19	117,34	117,19	+0,15	117,15	+0,19
Cholestan $C_{27}H_{46}$	116,48	116,43	+0,05	117,07	-0,59	117,03	117,58	-0,55	117,62	-0,59
Cholestan $C_{27}H_{48}$	117,00	116,80	+0,20	117,57	-0,57	117,60	117,97	-0,37	118,09	-0,49
Cholesteryl- xanthogensau- res Methyl $C_{27}H_{44}OCSSCH_3$	144,21	—	—	—	—	144,84	144,90	-0,06	144,81	-0,03
Dihydrochole- steryl-xantho- gensaures Me- thyl $C_{27}H_{44}OCSSCH_3$	144,31	—	—	—	—	145,03	145,27	-0,24	145,28	-0,25

Die Molekularrefraktion (MR) ergibt sich aus der spezifischen Refraktion durch Multiplikation mit dem Molekulargewicht M des gelösten Körpers.

Die Resultate der Messungen sind in den vorstehenden Tabellen zusammengestellt.

Die theoretischen Werte MR der Tabelle III sind nach den bekannten Zahlen von Brühl (α -Linie) und Conrady (D -Linie) einerseits und nach neueren Angaben von Eisenlohr¹⁾ andererseits berechnet,²⁾ und zwar in

¹⁾ Journ. prakt. Chemie 75, 5. Heft (1910).

²⁾ Für die Atomgruppe $C \begin{smallmatrix} S \\ \diagdown \\ S \end{smallmatrix}$ der Xanthogenate wurde der von einem von uns vor mehreren Jahren berechnete Wert $r_D = 18,51$ angenommen. (Vgl. L. Tschugaëff, Untersuchungen in der Terpen- und Campherreihe, Moskau 1903.)

der Voraussetzung, daß im Cholesterinmolekül nur eine einzige Doppelbindung vorhanden sei. In den Spalten Δ' und Δ'' sind die Differenzen zwischen den experimentellen und den (in zweierlei Weise) theoretisch berechneten Werten eingesetzt.

Wie leicht ersichtlich, besteht zwischen den experimentellen und den theoretischen Werten im allgemeinen eine genügende Übereinstimmung, und zwar liegen die für die Wasserstofflinie α gefundenen Werte meistens zwischen den nach Brühl und nach Eisenlohr berechneten. Ganz beträchtliche Abweichungen treten dagegen auf, wenn man die theoretischen Werte der Molekularrefraktion in der Voraussetzung berechnet, daß im Cholesterinmolekül nicht eine, sondern 2 Äthylenbindungen vorhanden seien.

So z. B. beträgt die Abweichung von der Theorie (nach Brühl und Conrady berechnet), falls man 2 ϵ annimmt:

	α -Linie	D-Linie
Cholesterin	— 1,5	— 2,2
Cholesterylen	— 1,1	— 1,6
Cholesten	— 1,8	— 2,3
Cholestan	— 1,6	— 2,1
Cholesterylxanthogensaures Methyl	— .	— 1,8
Dihydrocholesterylxanthogensaures Methyl	— .	— 1,95

Ähnliche Abweichungen erhält man unter Benutzung der Eisenloherschen Zahlen.

Die Ergebnisse unserer an 6 verschiedenen Gliedern der Cholesteringruppe ausgeführten Messungen führen somit ziemlich übereinstimmend zu dem allgemeinen Resultate, daß im Cholesterinmolekül nur *eine* Doppelbindung in gewöhnlichem Sinne vorhanden ist. Wir hoffen demnächst diese Schlußfolgerung an der Hand eines umfangreicheren Tatsachenmaterials einer erneuerten Prüfung unterziehen zu können.

(Geschlossen den 29. November 1911.)

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.