

# Studien über den Ursprung und die Bildung des Cholesterins.

Von

J. Lifschütz.

(Der Redaktion zugegangen am 21. Januar 1908.)

Betrachtet man die Mengenverhältnisse zwischen den ungesättigten Bestandteilen des Wollfettes, so erscheint die Tatsache sehr bemerkenswert, daß einerseits die Oleinsäure einen integrierenden Teil der Fettsäuren ausmacht, während andererseits die Cholesterine und deren neutrale Oxydationsprodukte quantitativ den hervorragenden Platz unter den unverseifbaren Neutralstoffen (Alkoholen) einnehmen. Am charakteristischsten tritt dieser Umstand hervor, wenn man den 85—90% betragenden öligen Teil des neutralen Wollfettes ins Auge faßt. Ich fand darin<sup>1)</sup> die Oleinsäure zu ca. 40% des sauren Teils und die Cholesterine und deren Oxydate<sup>2)</sup> zu 60—65% vom neutralen, unverseifbaren Teil. Da nun das neutrale «Weichfett» des Wollfettes aus 40—45% Fettsäure und 55—60% unverseifbaren Stoffen besteht, so enthält es gegen 18% Oleinsäure und gegen 35% Cholesterine und deren Derivate. Erwägt man ferner, daß dieses Fettgebilde ca. 7 bis 10% an den genannten Cholesterinstoffen in freiem Zustande enthält und daß diese ein wesentlich höheres Durchschnittsmolekulargewicht als die Oleinsäure besitzen, so darf wohl angenommen werden, daß der größere gebundene Teil dieser Neutralstoffe — ca. 25% vom «Weichfett» — sich in diesem als Oleinsäureester befindet.

Unter diesem Gesichtspunkte ist die typische Ähnlichkeit dieser Esterverbindungen mit dem cerotinsauren Cerylalkohol des Bienenwaxes oder dem Liebermannschen Coccerin, d. h. dem coccerinsauren Coccerylalkohol<sup>3)</sup> nicht zu verkennen.

<sup>1)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXI, S. 97.

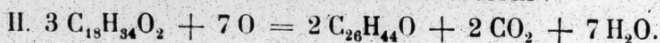
<sup>2)</sup> Dasselbst, Bd. XXXI, S. 1127.

<sup>3)</sup> Liebermanns Coccerinwachs, Ber. der Deutsch. chem. Ges., Bd. XVIII, S. 1980.

Dieser Gedankengang drängte mir noch vor etwa 10 Jahren die Vermutung auf, daß zwischen der Oleinsäure ( $C_{18}H_{34}O_2$ ) und dem Cholesterin ( $C_{27}H_{44}O$  oder  $C_{26}H_{44}O$ ) analoge genetische Beziehungen bestehen müßten, wie zwischen den Komponenten der erwähnten Wachsarten. Konnte freilich hier von einem Entstehen der Säure aus dem Alkohol nicht die Rede sein, so war doch das Umgekehrte, d. h. die Bildung der Cholesterine aus der Oleinsäure (etwa durch Oxydation der letzteren) nicht bloß denkbar, sondern sogar sehr wahrscheinlich. Den Vorgang würden etwa folgende Ausdrücke veranschaulichen:



oder nach der älteren Formel für Cholesterin:



Zahlreiche Versuche nach dieser Richtung hin, die während der letzten zehn Jahre ab und zu ausgeführt wurden, führten zu keinem greifbaren Resultate. Bei diesen Versuchen sammelte ich jedoch an den Oxydationsprodukten der Oleinsäure sowie des Cholesterins eine Reihe von Erfahrungen und Beobachtungen, die jener theoretischen Vermutung von den nahen Beziehungen zwischen diesen Substanzen nach und nach einen hohen Grad von Wahrscheinlichkeit verliehen haben.

Die nachstehenden Versuche mögen nun dartun, daß es tatsächlich gelingt, durch Oxydation der Oleinsäure zum Cholesterin, bezw. zu demselben nahestehenden Derivaten zu gelangen.

Die unerwartete Schwierigkeit, eine absolut cholesterinfreie Oleinsäure aus dem Handel fertig zu erhalten,<sup>1)</sup> mußte bei diesen Versuchen durch Reinigung der bezogenen Handelspräparate im Laboratorium überwunden werden. Zu diesem Ende wurde beispielsweise ein technisch reines sogenanntes saponifiziertes Olein des Handels in die Natronseife verwandelt, diese zunächst an der Luft und dann längere Zeit bei  $105^\circ C.$  gut getrocknet und im Extraktionsapparat 8 bis 10 Stunden mit reinem Äther extrahiert. Der krystallinische, schmalzartige Rückstand des Ätherextraktes enthielt bedeutende Mengen Cholesterinstoffe neben anderen unverseifbaren, bezw. unverseiften

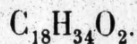
<sup>1)</sup> Selbst die Firma C. A. F. Kahlbaum-Berlin konnte mir eine solche nicht liefern.

Bestandteilen und etwas Seife. Die im Extraktor verbliebene ausgezogene Seifenmasse wurde mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und das isolierte Öl gut gewaschen und getrocknet.

Um das so erhaltene Öl auf die Stufe seiner Cholesterinfreiheit zu prüfen, wurde eine Probe desselben in alkoholischer Lösung mit Kalilauge neutralisiert, mit Wasser passend verdünnt und die klare Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Der gut gewaschene ätherische Auszug hinterließ eine nur sehr geringe Menge eines öligen Rückstandes, der mit 1 bis 2 ccm Acetanhydrid aufgenommen, auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure keine Spur von Cholestolreaktion zeigte.

Die so gereinigte (nebenbei völlig stickstofffreie) Oleinsäure hatte eine braun- bis orangegelbe Farbe und die übliche Konsistenz und Viskosität. Sie erstarrte gegen  $10^{\circ}$  C. zu einer hellgelben, schmalzartigen Krystallmasse, die bei  $16$ — $17^{\circ}$  C. wieder klar schmolz. Ihre Säurezahl betrug **198,24**

gegen **198,57** nach der Formel



Die Ölsäure wurde folgendermaßen behandelt:

#### Oxydation der Oleinsäure.

1,5 g der Oleinsäure wurden in 20 ccm Eisessig gelöst und auf dem Wasserbade bei  $80$ — $85^{\circ}$  C. mit einem Gemisch von 20 ccm 5%iger wässriger Kaliumpermanganatlösung und 80 ccm Eisessig in kleinen Portionen vermischt. Die rote Farbe verschwindet ziemlich schnell. Zieht man dann aus dem eben braun gewordenen Gemisch eine Probe von 2—3 ccm, gibt 4 Tropfen konzentrierte Schwefelsäure hinzu und erwärmt schwach, so verschwindet in den ersten Stadien der Operation die dunkelbraune Farbe der Probe sehr schnell, wird zunächst fast farblos; nimmt aber sehr bald eine schön violette bis violettrote Farbe an, die sich beim Stehen wesentlich verstärkt. Die Lösung zeigt dann ein charakteristisches Absorptionsspektrum, bestehend aus einem tiefdunkeln, breiten Band zwischen Blau und Grün, das sich ziemlich weit in dieses letztere Feld des Spektrums erstreckt; einem schmalen und wesentlich durchsichtigeren Band im Grün (zwischen D und E) nahe dem Gelb, und einem schmalen

Streifen im Gelb, der erst bei verengterem Spalt des Spektroskops deutlich sichtbar wird.<sup>1)</sup> Zieht man diese Proben aus dem ca. 85° C. warmen Gemisch etwa von 5 zu 5 Minuten, so merkt man, daß sich die Lösungen nach dem Entfärben mit Schwefelsäure (das nebenbei immer schwieriger und langsamer vonstatten geht) immer schwächer färben. Eine nach etwa 20 Minuten gezogene Probe bleibt nach dem Entfärben völlig farblos und ohne jedes Absorptionsspektrum.

Bis dahin bleibt die dunkelbraune Lösung völlig klar; erst kurz nach dem Verschwinden der genannten Farbenreaktion fängt eine Abscheidung von festem  $MnO_2$  an. Eine Gasentwicklung findet während der ganzen Reaktionsdauer nicht statt.

In diesem Stadium wurde bei den bisherigen Versuchen die Operation unterbrochen. Das echt braune, fast noch klare Gemisch wurde mit fester Oxalsäure entfärbt, von dem weißen Niederschlag heiß abfiltriert, die klare, schwach gelbe Lösung eingedampft, der Rückstand durch wiederholtes Vermischen mit absolutem Alkohol auf dem Wasserbade vom Eisessig vollständig befreit und längere Zeit getrocknet. Die braune, feste, zähe und etwas klebrige Masse wurde nun, um die etwa entstandenen Ester bzw. die Manganverbindungen zu zersetzen, mit 5–8%iger alkoholischer Kalilauge 1 bis 1½ Stunden auf dem Wasserbade gekocht. Die Seifenlösung wurde vom größten Teil des Alkohols befreit, mit Wasser aufgenommen, die überschüssige Lauge mit Schwefelsäure abgesättigt und die nur schwach alkalische Lösung mit Äther 2 bis 3mal tüchtig ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit verdünntem Spiritus gut ausgewaschen und nach Beseitigung des Äthers — der Rückstand mit absolutem Alkohol auf dem Wasserbade vom Wasser völlig befreit und getrocknet.

---

<sup>1)</sup> Die gesättigten Fettsäuren gaben diese Reaktion nicht. Inwiefern diese farbenschöne und spektralanalytisch charakteristische Reaktion als Erkennungsmerkmal für Ölsäure zu gebrauchen wäre, läßt sich zur Zeit noch nicht übersehen. — Eine ähnliche Reaktion gibt schon die Ölsäure mit Essigschwefelsäure auch für sich; jedoch erscheint das Absorptionsspektrum mehr nach dem violetten Ende des Spektrums verschoben.

Das so gewonnene Unverseifbare betrug 25 bis 30 mg. Es ist farblos bis hellgelb, fest, fettig, auf dem Wasserbade noch unschmelzbar und strahlenförmig krystallinisch. Mit ca. 2 ccm Essigsäureanhydrid heiß aufgenommen und nach dem Erkalten mit 1 bis 2 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt, zeigt die Lösung nach kurzer Zeit eine kräftige und rein grüne Farbe, begleitet von gelblich grüner Fluorescenz. Die ausgesprochenen Absorptionsspektren dieser Lösung im Grün, Orange und Rot des kontinuierlichen Spektrums<sup>1)</sup> hinterlassen keinen Zweifel, daß man es hier mit der Liebermannschen Cholestolreaktion zu tun hat; das heißt, daß die Oleinsäure bei der Oxydation sich teilweise — etwa im Sinne der eingangs dieser Mitteilung entworfenen Gleichungen — zu Cholesterin oder zu einem ihm sehr nahe stehenden Derivat oxydiert haben mußte. Auch die bekannte Cholesterinreaktion von Hager (nach Salkowski) mit Chloroform und konzentrierter Schwefelsäure bestätigt dies in charakteristischer Weise.

Hierzu ist noch zu bemerken, daß die kräftige, rein grüne Farbe dieser Cholestolreaktion schon nach 30 bis 40 Minuten zu verblassen anfängt, um allmählich — unter Schwinden des Absorptionsspektrums — in braungelb überzugehen, eine Erscheinung, die man bei den Pflanzencholesterinen und manchen Cholesterinderivaten, im Gegensatz zum relativ dauerhaften «Cholestolgrün» des reinen Gallensteincholesterins, sehr häufig wahrnehmen kann.

Die Hauptmenge des Reaktionsproduktes zeigte bei der näheren Untersuchung, daß die obige Oxydation der Oleinsäure sich keineswegs auf die Bildung der oben kurz beschriebenen relativ geringen Menge des cholesterinhaltigen Unverseifbaren beschränkt. Vielmehr scheint letzteres einen nur kleinen Teil eines der weiteren Oxydation entgangenen intermediären Produktes darzustellen, dessen Endprodukt sich

<sup>1)</sup> Vgl. hierüber Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXI, S. 100, und Monatshefte für prakt. Dermatol., Bd. XLV, S. 399, «Spektroskopie der Cholesterine».

als Satz einer anscheinend neuen Säure in weit größerer Menge in der mit Äther extrahierten Seifenmasse befindet. Diese neu entstandene Säure ist in Benzin unlöslich und konnte daher von den eigentlichen Fettsäuren ziemlich leicht getrennt werden.

Zu diesem Ende wurde die mit Äther extrahierte und von Äther und Alkohol befreite Seifenlösung mit Wasser aufgenommen, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und zunächst mit leichtem Benzin (spez. Gew. 0,720) tüchtig ausgeschüttelt. Letzteres löste nur einen Teil der freigelegten Säuren; ein anderer Teil schwebte in braunen Öltropfen zwischen der milchigtrüben, wässerigen und der klaren, scharf getrennten, hellgelben benzinösen Schicht. Diese wurde abgehoben, mit Wasser gut gewaschen, durch ein Doppelfilter filtriert, eingedampft und getrocknet. Das zurückgebliebene Öl erstarrte nach dem Erkalten zu einer hellgelben, schmalzartigen, krystallinischen Fettmasse. Sie zeigte eine Säurezahl von 204,96 und ist sehr wahrscheinlich ein Gemisch von Palmitinsäure und unveränderter Oleinsäure.

Die von der Benzinlösung dieser Fettsäuren abgetrennte wässrige Emulsion mit den darauf schwimmenden braunen Öltropfen wurde mit Äther ausgeschüttelt. Dieser zog nunmehr alles aus und hinterließ eine klare und farblose, wässrige Lösung. Der Ätherauszug wurde wiederholt mit Wasser gewaschen, der Rückstand nach Beseitigung des Äthers mit absolutem Alkohol auf dem Wasserbade von Wasser befreit und getrocknet. Die so erhaltene Säuremasse stellt eine geruchfreie, braune, sirupdicke und stark klebrige Substanz dar, die mit einer Fettsäure nicht die geringste Ähnlichkeit hat. Sie ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und Äther und unlöslich in Benzin oder ähnlichen Mitteln. Beim langem Lagern scheiden sich aus ihr allmählich kleine Kryställchen ab. Ihre Säurezahl ist bereits in diesem Zustande bedeutend höher als die der bekannten eigentlichen Fettsäuren und betrug nach den bisherigen Versuchen 255 bis 260.

Aus der wässrigen Kalisalzlösung dieser Säuremasse fällt Chlorcalciumlösung einen nur kleineren Teil aus; das Kalksalz

des größeren Teils bleibt in Lösung. Die Säure des wasserunlöslichen Salzes ist dunkelbraun, sirupös, zähe und klebrig. Die Säure des wasserlöslichen Kalksalzes ist dagegen fest, von wachsartigem Habitus, hellgelb und mikrokristallinisch. Nach wiederholter Behandlung ihrer Kalisalzlösungen mit  $\text{CaCl}_2$  schmolz die freigelegte Säure klar bei 82 bis 85° C. und erstarrte sehr langsam zu kugelförmig gruppierten kleinen Prismen. Ihre Säurezahl betrug **460**, was — die Einheitlichkeit der Säure vorausgesetzt — auf eine Polycarbonsäure des Cholesterins hindeuten scheint.<sup>1)</sup> Indessen muß die Bestätigung dieser bedeutsamen Annahme einer weiteren sorgfältigen analytischen Prüfung vorbehalten bleiben.

Die Ausbeute an den obigen Säuren beträgt:

Palmitin-Oleinsäuregemisch: 50 bis 55% und

benzinunlösliches Säuregemisch: 45 bis 50%

des zurückgewonnenen sauren Teils des Reaktionsproduktes.

Unterwirft man diesen vom neugebildeten Unverseifbaren getrennten Teil der Oleinoxydate einer erneuten Oxydation mit Permanganat in der beschriebenen Weise, so erhält man wiederum das auf Cholesterin reagierende Unverseifbare mit denselben Eigenschaften wie bei der ersten Oxydation der ursprünglichen Oleinsäure.

Bremen, im Januar 1908.

---

<sup>1)</sup> Die entsprechende Tetracarbonsäure  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_8$  würde eine Säurezahl **459** beanspruchen.