

Zur Kenntnis des Oxycholesterins.

(Cholesterindibromid-, Metacholesterin⁴-Oxycholesterin.)

III. Mitteilung¹⁾.

Von

I. Lifschütz in Hamburg.

(Der Redaktion zugegangen am 30. Mai 1913.)

Die Erkenntnis, daß das Oxycholesterin als zweiwertiger Alkohol (mit zwei OH-Gruppen) aufzufassen ist, legte die Frage nahe: welche räumliche Stellung seine zweite neue OH-Gruppe im Cholesterinmolekül einnimmt. Faßt man die viel höhere Reaktionsfähigkeit dieses neuen Alkohols gegenüber der des eigentlichen Cholesterins ins Auge, so liegt an sich schon die Annahme nicht fern, daß die neue OH-Gruppe an einem der zwei im Cholesterinmolekül durch eine doppelte Bindung zusammenhängenden C-Atome gelagert sein müßte. Ein stützendes Analogon würde diese Annahme finden in dem bereits in der zweiten Mitteilung (dieser Folge) angeführten isomeren Cholesterinoxid von Westphalen²⁾, in dem das neue O-Atom mit jenen zwei ungesättigten C-Atomen zusammenhängt; zumal auch dieser Körper — wie das Oxycholesterin mit Benzoylsuperoxyd — mit einem analogen Oxydationsmittel, der Benzopersäure, hergestellt ist.

Die Richtigkeit dieser Anschauung sollen die nachstehenden Versuche dartun.

Bei der Wahl eines Versuchsobjektes zur experimentellen Behandlung jener Annahme, behufs Gewinnung eines festen

¹⁾ I.: Berichte Bd. 47, S. 1453 ff. (1914). II.: Diese Zeitschr. Bd. 96, S. 342 ff. (1916).

²⁾ Berichte Bd. 48, S. 1064 (1915).

Gesichtspunktes für einen sicheren Einblick in das Oxysterinmolekül, war naturgemäß die Höhe der Angriffsfähigkeit (Reaktionsempfindlichkeit) des zu wählenden Cholesterinderivates gerade an jenen zwei ungesättigten C-Atomen von bestimmender Bedeutung. Als solches Objekt empfahl sich bald das Cholesterindibromid, das sich ja außerdem auch leicht in reinem Zustande herstellen läßt.

Bei der Herstellung dieses Präparates bin ich von den bisher gebräuchlichen Verfahren insofern abgewichen, als ich für beide Komponenten, für das Cholesterin wie für das Brom, ein und dasselbe Lösungsmittel (Äther) in Anwendung brachte, da mir die Verwendung namentlich von Eisessig als Mittel für die eine der Komponenten als zu unbequem, kostspielig und, wie aus dem Verlauf dieser Arbeit ersichtlich, auch chemisch nicht unbedenklich erschien. Es wurde wie folgt verfahren:

20 g Cholesterin¹⁾ wurden in 200 ccm Äther gelöst und mit etwa 10 g (= 3,3 ccm) in 90 ccm Äther frisch unter tüchtigem Durchschütteln gelösten Broms vermischt. Die in wenigen Minuten hell rötlichgelb gewordene klare Lösung wurde dann mit 2—2½fachem Volumen 90%igen Weingeistes vermischt. In kurzer Zeit erstarrte das Gemisch zu einem fast steifen Brei weißer, glänzender Nadeln. Nach etwa 30 Minuten wurde er auf eine Filterplatte geworfen, gut abgesaugt und mit möglichst kleinen Mengen 90%igen Weingeistes nachgewaschen, bis die Waschflüssigkeit beim Verdünnen mit angesäuertem Wasser keinen nennenswerten Niederschlag gab.

Das Dibromid ist dann schneeweiß und einheitlich. Es wurde zerkleinert, erst an der Luft und dann im Vakuum über Chlorcalcium vom Lösungsmittel und Feuchtigkeit vollständig befreit.

Diese Hauptmenge des reinen Dibromids betrug 21,1 g. Das ätherisch-spirituöse Filtrat ergab, nach freiem Verdunsten des Äthers in einer flachen Schale, weitere 5,0 g des reinen Körpers; also zusammen 26,1 g = 96,6% der theoretischen

¹⁾ Mit 1 Molekül H₂O und vom Schmelzpunkt 145—146° C.

Ausbeute. Die Brombestimmung des so gewonnenen Körpers stimmte fast genau zur Formel $C_{27}H_{46}Br_2O$.

Die Bestimmung wurde wie folgt ausgeführt:

0,2944 g des Dibromids wurden in 75 ccm 95%igen Alkohols kochend gelöst, die heiße Lösung mit einigen Tropfen verdünnter Salpetersäure versetzt und mit Silbernitratlösung gefällt. Der Niederschlag setzte sich in der Wärme gut ab, ließ sich leicht und völlig klar filtrieren und bis zum Ag-freien Filtrat mit heißem Weingeist auswaschen. In üblicher Weise getrocknet, ergaben sich 0,1981 g AgBr, woraus sich 28,64% Br vom angewendeten Dibromid berechnet (Theorie: 29,26% Br). Das Filtrat war Br-frei.

Vorweg bezeichnend ist, daß das Filtrat, ausgeäthert, einen hellgelben amorphen Rückstand lieferte, der sich genau wie Oxycholesterin verhielt und auch eine intensive und farbenschöne Oxycholesterin-Reaktion mit Essigschwefelsäure gab. (Diese besteht aus 10 Vol. Essigsäure und 1 Vol. H_2SO_4 .)

Die Reaktionen des Cholesterindibromids sind denen des Cholesterins teils ähnlich und teils mit ihnen identisch. Es fällt nicht mit Digitonin und reagiert nicht mit Essigschwefelsäure auf Oxycholesterin. Es läßt sich nur in einer völlig wasserfreien Atmosphäre aufbewahren, da es sich sonst allmählich unter HBr-Entwicklung zersetzt, und zu einem schwarzen und amorphen Pech zusammensintert.

Das Verhalten des Cholesterindibromids zu Wasser und den verschiedensten Reagenzien liefert eine solche Fülle von Erscheinungen und Reaktionsprodukten, daß momentan von einer erschöpfenden Erörterung derselben Abstand genommen werden muß, zumal der gegenwärtig herrschende Mangel an reinen Chemikalien und Lösungsmitteln diese komplizierten Untersuchungen außerordentlich erschwert. Demnach sollen hier vorderhand nur diejenigen bis zu einer gewissen Klarheit bereits gediehenen Punkte herausgegriffen und besprochen werden, an denen sich das Cholesterindibromid mit dem Oxycholesterin unmittelbar berührt und die so zu einer befriedigenden Klärung der eingangs aufgeworfenen konstitutiven Frage Wesentliches beizutragen vermögen.

I.

Einwirkung von Eisessig auf Cholesterindibromid.

(Farb- und Spektralreaktionen.)

Löst man das Dibromid bei gelinder Wärme in Eisessig, so scheidet es sich beim Erkalten in seinen unveränderten feinen weißen Nadeln wieder aus. Erhitzt man aber die Lösung stärker, so färbt sie sich zunächst rotgelb und wird beim anhaltenden Kochen intensiv blutrot mit grünlich-gelber Fluoreszenz. Die Lösung zeigt dann folgendes ziemlich komplizierte Absorptionsspektrum, bestehend

1. aus einem schmalen, durchsichtigen Streifen zwischen Orange und Gelb,
2. aus einem tiefdunklen, breiten Band in Grün, dicht am Gelb, das sich bis zur Mitte des Grün ausdehnt, und
3. aus schwächeren Absorptionen im Blau und Violett.

Die Lösung wird beim Stehen der Reihe nach: rotviolett, violettrot, blauviolett und schließlich blau. Absorption I verstärkt sich dabei, wird breiter, scharf begrenzt und löscht das Gelb gänzlich aus, während Absorption II schwindet, und im Rot (nahe dem Orange) eine schwache Linie auftaucht, die anscheinend mit der des Oxycholesterins nicht zusammenfällt.

Daß diese intensive und farbenreiche Reaktion eine Veränderung des Dibromids anzeigen muß, geht daraus hervor, daß nach dem Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Wasser, selbst in den ersten Phasen der Reaktion, das vom festen Niederschlag abfiltrierte Wasser mit Silbernitratlösung eine reichliche Fällung von AgBr liefert. Die eigenartigen Wandlungen der Farben und Spektren aber ließen ihrerseits annehmen, daß die verschiedenen Reaktionsphasen auf das Entstehen entsprechend verschiedener Reaktionsprodukte im Gemische hindeuten. Diese Annahme bestätigt sich auch, wenn man den Verlauf der Reaktion an der Hand des Spektroskops verfolgt.

Versetzt man nämlich eine Probe des Reaktionsgemisches im ersten blutroten Stadium der Reaktion mit etwas Chloro-

form und einigen Tropfen konz. Schwefelsäure, so verändern sich zwar Farbe und Spektrum des Gemisches, aber nicht, wie zu erwarten wäre, im Sinne der bekannten Essigschwefelsäure-Reaktion des Oxycholesterins, die ihre Spektralabsorptionen im Gelb und hierauf im Rot entstehen zu lassen pflegt. Vielmehr bleiben hier diese Spektralfelder klar und die Hauptabsorption erscheint bei passender Verdünnung als dunkles Band im Grün, dicht am Blau. Kocht man dagegen die blutrote Eisessiglösung, bis sie eine ausgesprochene violettrote Farbe (mit einer mehr blauvioletten Nuance) angenommen hat, und setzt dann zur abgekühlten Lösung etwas Chloroform und konz. Schwefelsäure zu (ca. 8 Tropfen auf 3 ccm Lösung), so färbt sie sich bald kirschrot. Die obige Absorption 1 (im Orange) dehnt sich (über das Gelb bis in das Grün) zum breiten, tiefdunklen Band aus, während Band 2 (des obigen blutroten Stadiums) immer schwächer wird, sich nach der Mitte des Grün bewegend. 1 Tropfen 2%iger Eisenchloridlösung (in Eisessig) verwandelt die Farbe in ein echtes und schönes Sattgrün, die starke Absorption im Gelb verschwindet bis auf einen schmalen und sehr schwachen Streifen, während zwischen C und d (im Rot) ein starker und tiefdunkler Streifen entsteht, der bei passender Verdünnung der Lösung von beiden Seiten fast scharf gerändert ist. Diese Farben- und Spektralerscheinungen charakterisieren die Reaktion — wie ersichtlich — scharf als die bekannte Essigschwefelsäure-Reaktion des Oxycholesterins¹⁾.

Zu beachten ist dabei, daß das Gemisch nicht über den erwähnten Punkt gekocht werden darf, da es sonst mißfarbig wird, wobei weitere Reaktionsprodukte zu entstehen pflegen, die die Oxycholesterinreaktion nicht mehr geben. Um dies zu umgehen, empfiehlt es sich, wenn es auf rasche Abwicklung des Reaktionsvorganges nicht ankommt, das Gemisch nur bis zur ziemlich starken Rotfärbung zu kochen. Die weitere Entwicklung der Reaktion geht beim Erkalten des Gemisches

¹⁾ Vergl. Diese Zeitschr. Bd. 53, S. 144 (1907); Berichte Bd. 41, S. 252 (1908), ff. u. a. O.

langsam auch ohne weitere Erwärmung gut vonstatten. Bei der Langsamkeit des Reaktionsverlaufs lassen sich die Wandlungen der Farben und der Spektren viel besser verfolgen. Setzt man nun zur blauviolett oder blau gewordenen Lösung etwas Chloroform und auf etwa 3 ccm Lösung 8—10 Tropfen H_2SO_4 zu, so färbt sie sich kirschrot usw. und gibt die oben geschilderte Essigschwefelsäure-Reaktion des Oxycholesterins mit allen ihren charakteristischen Farben und Spektralabsorptionen.

Wesentlich beschleunigen läßt sich die obige Cholesterindibromid-Reaktion, wenn man zu etwa 3 ccm seiner Essiglösung vor ihrer Kochung 1—2 Tropfen Wasser zusetzt.

Sucht man nun des eigentlichen Reaktionsproduktes durch Fällung mit Wasser habhaft zu werden, so gelingt es nur schwer und selten zu einer Substanz mit befriedigend starker Oxycholesterin-Reaktion zu gelangen; da aber, wie oben nachgewiesen, bei der Einwirkung des Eisessigs auf das Dibromid reichlich Bromwasserstoffsäure entsteht, so erschien es als sehr wahrscheinlich, daß diese in der stark reaktiven Essigsäure die Oxycholesterinbildung ungünstig beeinflusst. Tatsächlich bestätigt sich diese Anschauung, wenn man die Kochung des Cholesterinbromids mit Eisessig in Gegenwart eines HBr-bindenden Mittels vornimmt. Löst man nämlich den Bromkörper in der Säure bei nur gelinder Wärme, setzt dann zur noch farblosen Lösung eine genügende Menge kristallisierten Natriumacetats zu und kocht nunmehr das Gemisch einige Male auf¹⁾, so färbt es sich nicht rot, sondern grünlichgelb, ohne irgendwelche Spektralabsorption zu zeigen. Wird nun zur kalten Lösung (auf 3 ccm) 8—10 Tropfen H_2SO_4 und darauf etwas Chloroform zugesetzt, so nimmt das Gemisch eine intensiv kirschrote Farbe an, die bald blauviolett und beim weiteren Stehen (oder auf Zusatz eines Tropfens Eisenchloridlösung auch sofort) echt grün wird. Die sehr

¹⁾ Es darf nicht zu lange gekocht werden, da sonst teerige Produkte entstehen, die die Isolierung des Reaktionsproduktes durch Fällung mit Wasser usw. sehr erschweren und seine Farbreaktionen beeinträchtigen. Etwa zwei- bis dreimaliges Aufkochen des Gemisches genügt.

starken und scharf gezeichneten Spektralabsorptionen des farbigen Gemisches sind die des reinen Oxycholesterins. Außerdem erscheint mitunter im Blau ein starkes Band, das den Raum von der Mitte dieses Spektralfeldes bis an die Grenze des Violett einnimmt. Diese letztere Absorption, die dem eigentlichen Mono-Oxycholesterin, wie man es durch direkte Oxydation des reinen Cholesterins erhält¹⁾, nicht zukommt, kann nicht weiter auffallen, wenn man berücksichtigt, daß aus dem Dibromid daneben auch ein Dioxychloesterin entstehen kann, dessen zweiter OH-Gruppe, wie weiter unten dargetan wird, anderweitige Spektralabsorptionen entsprechen. Solche Nebenabsorptionen habe ich übrigens häufig auch im Spektrum der Essigschwefelsäure-(Oxycholesterin-)Reaktion der Blutfettalkohole beobachtet und beschrieben²⁾, eine Erscheinung, die erst durch diese neueren Beobachtungen ihre befriedigende Aufklärung finden dürfte. Aus der in Gegenwart von Natriumacetat abgekochten Eisessiglösung läßt sich nunmehr mit Wasser ein auf Oxycholesterin mit Essigschwefelsäure stark reagierendes Pulver abscheiden.

Indes, so wohlgeeignet diese Art der Manipulation als Reaktion auf Cholesterindibromid auch ist, so eignet sie sich doch weniger als präparative Maßnahme zur Herstellung der Br-freien Reaktionsprodukte. Fällt man nämlich das für sich auf Oxycholesterin mit Schwefelsäure usw. reagierende Eisessiggemisch mit Wasser, so erhält man zwar nach tüchtigem Durchschütteln desselben einen hellflockigen, gut filtrierbaren Niederschlag, der (trocken), wie gesagt, auch intensiv auf Oxycholesterin reagiert; der aber noch bedeutende Mengen Brom enthält. Bei einem quantitativ durchgeführten Versuch ergab das gesammelte wäßrige Filtrat einen Bromgehalt, der nur der Hälfte des Bromgehaltes des angewendeten Dibromids entspricht. Es ist also hier nur die Hälfte des Broms eliminiert worden.

¹⁾ Berichte Bd. 47, S. 1453 ff. (1914).

²⁾ Diese Zeitschr. S. 144 ff. (1907) u. a. a. O.

Wesentlich glatter und vollständiger vollzieht sich die Eliminierung des Broms aus dem Cholesterindibromid unter Bildung von Oxycholesterin durch folgende Einwirkungen.

II.

Einwirkung von Wasser auf Cholesterindibromid.

1. Amorpher Teil des Reaktionsproduktes.

Kocht man das reine Dibromid längere Zeit mit Wasser, so ballt es sich allmählich zu gelben Klumpen zusammen, die zu einem spröden Körper eintrocknen, der jedoch noch unverändertes Dibromid enthält. In etwas Chloroform gelöst, gibt er mit Essigschwefelsäure eine intensive und farbenschöne Reaktion, die in allen ihren Farben- und Spektralerscheinungen mit der gleichen Reaktion des Oxycholesterins übereinstimmt. Durch Behandlung mit Alkohol, in dem das letztere Cholesterinderivat leichter löslich ist als das Dibromid, läßt sich dieses, nach dem Auskristallisieren, abfiltrieren und aus dem Filtrat — nach Beseitigung des Alkohols — auch erhebliche Mengen des Oxykörpers erhalten¹⁾. Selbst durch anhaltendes Kochen des Bromids mit Wasser läßt sich das Brom nicht vollständig aus dem Körper entfernen; offenbar, weil das vermittelnde Lösungsmittel zwischen der Festsubstanz und dem Wasser fehlt. Andererseits wirkt, wie oben bereits angedeutet, die bei der Reaktion entstehende Bromwasserstoffsäure auf das gebildete Oxycholesterin weiter oxydierend. Es empfahl sich demnach, um die Reaktion möglichst einheitlich zu gestalten, das Dibromid in einem hierfür indifferenten wasserlöslichen Lösungsmittel zu lösen und die Kochung in Gegenwart von Wasser und eines die Bromwasserstoffsäure unwirksam machenden Körpers vor sich gehen zu lassen.

In der Tat gelingt es, in einer Lösung des Dibromids in 90%igem Spiritus in Gegenwart einer entsprechenden Menge Natriumacetats schon nach relativ kurzer Kochung

¹⁾ Noch besser läßt sich diese Trennung durch Fällung des Oxycholesterins mit Digitonin aus verdünnter alkoholischer Lösung bewirken, wobei der Bromkörper in Lösung bleibt und abfiltriert werden kann.

nahezu das gesamte Brom aus dem Dibromid zu eliminieren und es fast vollständig in die Oxyverbindung überzuführen.

Behufs Ermittlung günstiger Reaktionsbedingungen wurden nach dieser Richtung hin 9 Versuche ausgeführt. Als recht günstig für die Überführung des Cholesterindibromids in Oxycholesterin haben sich schließlich folgende Mengenverhältnisse resp. Kochdauer ergeben.

1,0 g reinen Cholesterindibromids wurde zusammen mit 4,0 g kristallisierten Natriumacetats in 50 ccm 90%igen Spiritus gelöst und 2 Stunden am Rückflußrohr gekocht. Das Gemisch wurde dann mit etwa dem gleichen Volumen Wasser verdünnt, mit Äther ausgeschüttelt und das Ätherextrakt mit alkoholhaltigem Wasser gut ausgewaschen. Die Waschflüssigkeit wurde mit der ersten Unterlage vereinigt, eingedampft, die Salzmasse mit reinem Wasser wieder aufgenommen und im Maßkolben genau auf 250 ccm verdünnt. In je 50 ccm der klaren Lösung wurde das Brom titrimetrisch bestimmt und dann nötigenfalls auch gewichtsanalytisch durch Fällung mit AgNO_3 kontrolliert. Die Analysen ergaben übereinstimmend 27,0% Brom vom angewendeten Dibromid, gegenüber 29,26% des theoretischen Bromgehaltes.

Das Ätherextrakt ergab nach Beseitigung des Äthers 0,7348 g = 73,48% Trockensubstanz. (Theorie: 73,6% Oxycholesterin.)

Die so erhaltene fast bromfreie Substanz konnte auf dem Wasserbade gut getrocknet werden, ohne merklich nachzudunkeln, was bei erheblichem Bromgehalt nicht der Fall zu sein pflegt. Sie ist hellgelb, fest, spröde und bernsteinartig durchsichtig, also ganz vom Habitus des wiederholt beschriebenen amorphen Oxycholesterins¹⁾. Nach etwa 24 Stunden konnten in dem selbst nach 6 Stunden noch völlig durchsichtigen Körper schwache Wölkchen einer Opaleszenz wahrgenommen werden, was von kleinen Beimengungen kristallinischer Substanz herzurühren pflegt. Ein kleines Splitterchen der Substanz, in etwas Chloroform gelöst, gab auf Zusatz von

¹⁾ Siehe obige Zitate auf S. 277 Anm. 1.

etwa 1 ccm Essigschwefelsäure (10:1) eine sehr intensive und farbenschöne Oxycholesterin-Reaktion, deren Empfindlichkeit schon in diesem rohen Zustande der Substanz — nach der Bestimmung der minimalen Spektralabsorption — 1:3636; betrug¹⁾. Das Spektrum der Reaktion (im Gelb resp. im Rot) stimmte vollkommen mit dem des Oxycholesterins überein. Andere Absorptionen traten hier nicht auf. Die Umwandlung des Dibromids in Oxycholesterin geht also hier wesentlich einheitlicher vor sich, als beim Operieren mit Eisessiglösung.

Behufs weiterer Reinigung wurde die Substanz in heißem Methylalkohol klar gelöst. Beim Stehen in der Kälte schied sich eine unbedeutende Menge Substanz zunächst als Öltröpfchen aus, die mit der Zeit kristallinisch erstarrten. Nach etwa 20 Stunden war die darüberstehende Lösung völlig klar, so daß sie abgegossen und die an der Gefäßwandung harzartig haftende Festsubstanz gut abgespült werden konnte. Die Lösung wurde heiß bis zur schwachen Opaleszenz mit Wasser versetzt, worauf sie beim Stehen wieder eine geringe Menge Festsubstanz abschied. Sie wurde abfiltriert und eingedampft. Die obige Oxycholesterin-Reaktion der Substanz hatte nunmehr eine Empfindlichkeit von 1:45454²⁾ und konnte somit als fast reines Oxycholesterin betrachtet werden. Da die Verluste des Rohproduktes bei seiner Reinigung nur gering waren, so konnte die Ausbeute an reinem Material auf mindestens 90% vom bromfreien Teil des Cholesterindibromids geschätzt werden.

Bei den zahlreichen Versuchen nach dieser Richtung hin konnte deutlich in Erfahrung gebracht werden, daß die Bildung der bromfreien Oxyverbindung hauptsächlich abhängig ist von der Menge des Bromwasserstoff bindenden Mittels. Bei Anwendung von nur 1—2 Teilen Natriumacetats auf 1 Teil des Dibromids erhält man nur 40—50% an dem amorphen Oxykörper, während der Rest ein weißer, gleichfalls bromfreier Kristallkörper ist, von dem weiter unten die

¹⁾ Berichte Bd. 47, S. 1454 ff. (1914).

²⁾ Vergl. Berichte Bd. 47, S. 1454 ff. (1914).

Rede sein wird¹⁾. Vorderhand sei nur bemerkt, daß er alle Reaktionen des Cholesterins gibt, aber nicht die Essigschwefelsäure-Reaktion des Oxycholesterins, er enthält somit kein Oxycholesterin. In den üblichen Lösungsmitteln löst er sich wesentlich leichter als Cholesterin und weicht auch in seiner Kristallform von diesem ab. Auch sein Schmelzpunkt, wie der seines Acetats, sind von denen des eigentlichen Cholesterins verschieden (s. weiter unten S. 285).

Wie ersichtlich, stimmt das auf diesem Wege gewonnene Oxycholesterin in seinen Eigenschaften mit dem durch Oxydation des Cholesterins gewonnenen Oxykörper völlig überein. Wie dieser, fällt auch jenes aus alkoholischer Lösung mit Digitonin in weißen silberglänzenden kleinen Blättchen, die völlig Br-frei sind und in Eisessiglösung mit H_2SO_4 eine intensive und reine Oxycholesterin-Reaktion geben.

Da das auf diesem Wege gewonnene Oxycholesterin infolge der leichten Löslichkeit des kristallinischen Nebenproduktes von diesem sich nur schwer trennen läßt, so wurde seine Digitoninverbindung, die sich gut umkristallisieren läßt, zu seiner Reinigung benützt. Zu diesem Ende wurde der Oxykörper aus einer 2%igen Lösung in 95%igem Weingeist mit einer Digitoninlösung in 90% Spiritus gefällt und mit 90%igem Spiritus gut ausgewaschen. Das weiße glänzende Digitonid wurde nach dem Trocknen im Vakuum in wenig Eisessig bei gelinder Wärme gelöst und mit 90%igem Spiritus so lange versetzt, bis das Digitonid anfang auszufallen. Die geringe Fällung wurde in der Wärme durch einige Tropfen Eisessig wieder aufgelöst und die Lösung langsam erkalten gelassen. Nach einigen Stunden schied sich das Digitonid bis auf eine kleine Menge in glänzenden Blättchen wieder aus. Es wurde abgesaugt, mit Spiritus vom Eisessig gut ausgewaschen und getrocknet.

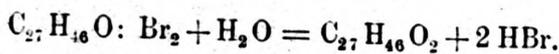
Aus dem so gereinigten Digitonid konnte seine Oxycholesterinkomponente nach dem von mir hierfür ausgearbeiteten

¹⁾ Höhere Ausbeuten am kristallinischen Teil des Reaktionsproduktes zu erzielen, oder gar die Oxycholesterinbildung ganz auszuschalten, scheint unter diesen Reaktionsbedingungen nicht möglich zu sein.

Verfahren¹⁾ restlos quantitativ in reiner Form erhalten und sicher identifiziert werden.

Ein wichtiges Merkmal bei der Identifizierung des auf obigem Wege erhaltenen Oxycholesterins mit der durch direkte Oxydation des Cholesterins mit Benzoylsuperoxyd gewonnenen Oxyverbindung ist ferner das Jodadditionsvermögen des fraglichen Körpers²⁾. Aber auch dieses Datum konnte hier mit positivem Erfolge ermittelt werden. Die Jodadditionszahl am neu gewonnenen und durch das Digitonid etc. gereinigten Oxycholesterin wurde nach dem Hüblschen Verfahren festgestellt. Danach nehmen 100 Teile dieses Oxykörpers 61,63 Teile Jod auf. Nach der Formel $C_{27}H_{46}O_2$ berechnen sich (für 2 Jodatome): 63,18 Teile Jod auf 100 Teile der Verbindung. Ein weiteres Kriterium des Oxycholesterins ist seine optische Aktivität. Sie ist, wie die des Cholesterins, negativ; beträgt aber nur $(\alpha_D) = -13,5^\circ$ (links drehend). Sie soll demnächst auch am neu gewonnenen Oxykörper ermittelt werden.

Aus dem oben Festgestellten folgt, daß die Wirkung von Wasser auf Cholesterindibromid nach folgender Gleichung verläuft:



Daraus ergeben sich folgende für die konstitutive Erkenntnis der räumlichen (OH)-Stellung der neuen OH-Gruppe im Cholesterinmolekül bedeutsame Schlußfolgerungen:

1. daß die doppelte Bindung des Cholesterinmoleküls, die durch Bromaddition aufgehoben war, bei der Eliminierung des Broms durch die Einwirkung von Wasser wiederhergestellt ist:

¹⁾ Die Einzelheiten dieses theoretisch ausführlich erörterten und experimentell begründeten Verfahrens siehe „Zur Analyse des Cholesterins“, Diese Zeitschr. Bd. 101, S. 89 (1918). Das Verfahren hat sich seither gut bewährt und leistete mir auch bei diesen Untersuchungen vortreffliche, ja entscheidende Dienste.

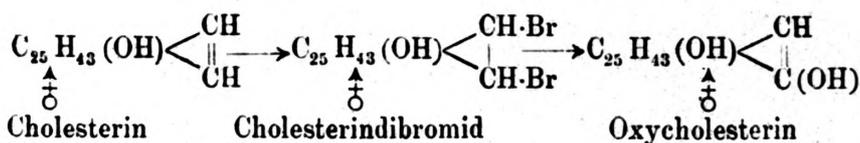
²⁾ Daß der aus reinem Cholesterin erhaltene Oxykörper eine ungesättigte, Jod stark addierende Verbindung ist, wurde wiederholt von mir hervorgehoben (vgl. u. a. Diese Zeitschr. Bd. 96, S. 250 (1916)).

2. daß durch den Eintritt des Sauerstoffatoms des Wassers an einem der ungesättigten Kohlenstoffatome eine (OH)-Gruppe (in tertiärer Form) entstanden ist¹⁾; und

3. daß diese (OH)-Gruppe nichts anderes ist als die des Oxycholesterins, wie es durch direkte Oxydation des Cholesterins mit milden Oxydationsmitteln, z. B. mit Benzoylsuperoxyd²⁾ oder — im tierischen Blut — durch das Oxyhämoglobin, entsteht³⁾.

Demnach und angesichts des glatten Verlaufs der Oxycholesterinbildung aus dem Cholesterindibromid unter so einfachen und milden Reaktionsbedingungen, beschränkt sich die Ortsbestimmung der neuen (OH)-Gruppe in dem kohlenstoffreichen Cholesterinmolekül nunmehr auf nur 2 Kohlenstoffatome, an denen (im Dibromid) die 2 Bromatome haften. Die nähere Bestimmung desjenigen dieser 2 C-Atome, an welchem die neue (OH)-Gruppe hängt, muß vorläufig dem weiteren Fortgang dieser Untersuchungen vorbehalten bleiben. Läßt sich z. B. unter den Nebenprodukten dieser Reaktion etwa ein anderer (OH)-Körper ermitteln, dessen (OH)-Stellung an einem der ungesättigten C-Atome vielleicht schon bekannt, und der mit obigem Oxycholesterin nicht identisch ist, so würde die (OH)-Stellung des letzteren ohne weiteres fixiert sein. Aber wie dem auch sei, so ist es vorderhand zu begrüßen, daß der Suchende auf eine ganz bestimmte Stelle hingewiesen werden kann.

Der Hergang der Bildung des Oxycholesterins aus dem Dibromid läßt sich durch folgendes Schema darstellen:



¹⁾ Über die alkoholartige Natur dieser (OH)-Gruppe siehe die zweite Mitteilung dieser Folge: Diese Zeitschr. Bd. 96, S. 342 ff. (1916).

²⁾ Berichte Bd. 41, S. 252 ff. (1908).

³⁾ Diese Zeitschr. Bd. 53, S. 142 ff. (1907) und Bd. 93, S. 211 ff. (1914) u. a. a. O.

Diese tertiäre Stellung der neuen (OH)-Gruppe erklärt auch hinreichend die wesentlich höhere Reaktionsfähigkeit des Oxycholesterins gegenüber der des Cholesterins.

So weit der amorphe Teil des Reaktionsproduktes.

2. Der kristallinische Teil des Reaktionsproduktes.

Daß dieser Teil einen Cholesterinkörper darstellt, zeigt schon seine intensive Cholestolreaktion. Es ist ja auch bekannt, daß man durch Einwirkung von Natriumamalgam auf Cholesterindibromid in Abwesenheit von Wasser wieder zum Cholesterin gelangen kann. Angesichts jedoch der vorliegenden total verschiedenen und viel mildereren Reaktionsbedingungen konnte immerhin hier dieser Effekt mindestens zweifelhaft erscheinen. Wie berechtigt aber dieser Zweifel war, mögen die folgenden Versuche dartun.

Das nach dem Verfahren 1, aber mit nur 1 Teil Natriumacetat auf 1 Teil Cholesterindibromid in Form des Ätherextraktes erhaltene, teils amorphe und teils kristallinische Reaktionsprodukt wurde in etwa dem 10fachen heißen Methylalkohols gelöst und mit wenig Wasser (bis zur schwachen Trübung) versetzt. Wie dort oben, schied sich auch hier der Kristallkörper, aber in viel größerer Menge ab. Er wurde abfiltriert, mit wenig wäßrigem Methylalkohol nachgewaschen und (mit dem Filter) auf porösem Ton abgesaugt. Der Körper enthält noch eine erhebliche Menge des amorphen Oxycholesterins, von welchem er, infolge seiner leichten Löslichkeit, mit Lösungsmitteln nur sehr schwer und unter großem Verlust an Substanz getrennt werden kann. Er wurde daher, wie oben der amorphe Teil, durch Fällung mit Digitonin und Umkristallisieren der so schon schneeweißen und silberglänzenden Doppelverbindung bis zur völligen Oxycholesterin- resp. Bromfreiheit gereinigt. Das so gereinigte Digitonid wurde dann nach dem oben auf S. 281 unten zitierten Verfahren acetyliert, und aus dem entstandenen (nunmehr mechanischen) Gemenge der Acetylverbindungen, des kristallinischen Cholesterinkörpers und des Digitonins, das erstere Acetat durch partielle Verseifung usw. vom verseiften Digitoninkörper getrennt.

Die so erhaltene Acetylverbindung des fraglichen Cholesterinkörpers, die so schon eine hohe Stufe der Reinheit zeigt, kristallisiert aus verdünntem Alkohol, je nach dessen Wassergehalt, in glänzenden Nadelchen oder Blättchen, die bei 109 bis 110° C. schmelzen. (Das Acetat des eigentlichen Cholesterins schmilzt bei 114° C.) Der Schmelzpunkt ändert sich auch nicht nach mehrfach wiederholtem Umkristallisieren, abwechselnd aus Methyl- resp. Äthylalkohol.

Durch Verseifung dieses Acetates und Ausätherung des Saponifikats scheidet sich der Cholesterinkörper beim Verjagen des Äthers in weißen, silberglänzenden Schuppen aus, die zwar äußerlich wie Cholesterin aussehen, die aber unter dem Mikroskop bei starker Vergrößerung in ihrer Form wesentlich davon abweichen. Aus Weingeist umkristallisiert zeigen sie nämlich nicht die strengen, starren und gradlinigen Ränder der rhombischen Cholesterintafeln. Vielmehr sind hier die Ränder oval (elliptisch), meist in flachem Bogen nach außen gebogen, nach oben und unten in einen spitzen, mitunter auch stumpfen Winkel zusammenlaufend. Die Kristalle erscheinen häufig vielfach verzwilligt oder in zackigen Formen, wo aber die einzelnen Zacken die ovalen Linien deutlich erkennen lassen. Nach wiederholtem Umkristallisieren aus Alkohol schmelzen die Kristalle bei 139—141° C., also etwa 5° tiefer als das für die Herstellung des obigen Dibromids verwendete eigentliche Cholesterin. Wie oben bereits angedeutet verhält sich dieser Cholesterinkörper, der mit dem dort oben unter 1. erwähnten Kristallkörper identisch ist, auch zu Lösungsmitteln wesentlich abweichend; namentlich in Methyl- oder Äthylalkohol löst er sich leichter als das eigentliche (rhombische) Cholesterin, ist daher aus dem ursprünglichen Rohprodukt selbst durch diese für ihn geeigneten Mittel nur unter Wasserzusatz und nach längerem Stehen von der Hauptmenge des Oxycholesterins zu trennen und erst, wie der obige amorphe Teil, über sein Digitonid und Acetat rein zu erhalten.

Aus den oben geschilderten Abweichungen geht deutlich hervor, daß bei der Eliminierung des Broms durch Wasser

neben Oxycholesterin ein Cholesterin entsteht, das zum mindesten in seinem molekularen Bau — etwa durch eine bei der Eliminierung des Broms sich vollziehende Umlagerung — eine Veränderung erlitten hat.

3. Herstellung des Kristallkörpers aus reinem Cholesterin.

Die Erwägung, daß neben der Eliminierung des Broms durch die obigen Maßnahmen eine Art Oxydationsprozeß vor sich geht, ließ es nicht ausgeschlossen erscheinen, daß auch bei der direkten Oxydation des Cholesterins eine ähnliche Veränderung desselben (bevor es in Oxycholesterin übergeht) stattfinden könnte. Folgender Versuch bestätigt es:

1,0 g Cholesterin wurde mit 1,0 g Benzoylsuperoxyd in 50 ccm 95%igen Alkohols am Rückflußrohr so lange gekocht, bis eine Probe nach Verdunsten des Alkohols, mit etwas Chloroform aufgenommen, beim Verdünnen der Lösung mit Eisessigschwefelsäure (10 : 1) eine deutliche Oxycholesterin-Reaktion gab, was nach einer Stunde der Fall war. Hierauf wurde 1 ccm 50%iger Kalilauge zugesetzt, das Gemisch ca. 10 Minuten weitergekocht, mit etwa dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und das alkalisch reagierende Gemisch mit Äther ausgeschüttelt. Das Ätherextrakt hinterließ — nach dem Abdestillieren des Äthers — eine blaßgelbliche, glänzende Kristallmasse, die nur wenig auf Oxycholesterin reagiert. Der kristallinische Teil des Reaktionsproduktes beträgt hier über 80% vom wasserfreien Cholesterin.

Der obige rohe Ätherrückstand wurde zunächst aus Methylalkohol umkristallisiert und ergab eine sehr weiße, silberglänzende Kristallmasse, die auf Oxycholesterin nicht mehr reagierte, und deren weitere Reinigung viel leichter und vollständiger ist als bei dem aus dem Dibromid erhaltenen Kristallkörper.

Aus Methyl- bzw. aus Äthylalkohol wiederholt umkristallisiert, ergab der Körper den konstanten Schmelzpunkt 139—141° C. Sein Acetat schmilzt bei 109—110° C, also waren dieselben Schmelzpunkte vorhanden, wie sie an dem aus dem Dibromid erhaltenen Kristallkörper resp. an dessen

Acetat festgestellt wurden. Auch in der Kristallform stimmen die beiden Körper überein, wenn sie aus den gleichen Mitteln kristallisiert sind.

Um jeden Zweifel an der Reinheit dieses Cholesterinkörpers auszuschließen, wurde er auch durch sein Digitonid, Acetat usw., wie S. 284 angegeben, gereinigt. Aber auch aus diesen komplizierten Reinigungsmanipulationen ging er mit seinen obigen Eigenschaften unverändert hervor.

Diese Befunde sind um so bemerkenswerter, als ich diese Cholesterinform wiederholt auch im unverseifbaren Anteil der Fette der tierischen Organe und Gewebe feststellen und isolieren konnte¹⁾. So ist, um zwei Extreme zu nennen, das Cholesterin der menschlichen Gallensteine, die, nebenbei bemerkt, kein Oxycholesterin enthalten, durchweg als eigentliches rhombisches Cholesterin befunden worden; dagegen enthält das Blutfett neben erheblichen Mengen Oxycholesterin sehr häufig — vermutlich je nach der Höhe der Verdauung zur Zeit der Blutentnahme — fast durchweg das obige elliptische Cholesterin, das auch in den genannten Schmelzpunkten, Löslichkeit usw. mit jenem übereinstimmt²⁾. In dieser Form scheint der Cholesterinkörper auch wesentlich oxydabler (reaktionsfähiger) als das eigentliche Cholesterin (z. B. der Gallensteine) zu sein. Jedenfalls ist diese Cholesterinform sicherlich nicht ohne biologische Bedeutung für die Rolle des Cholesterins in den tierischen Organen.

Über das Jodadditionsvermögen des Körpers sowie über seine optische Aktivität und sein Molekulargewicht soll in einer der nächsten Mitteilungen berichtet werden.

Der Kürze wegen sei für diesen Körper der Name „Meta-cholesterin“³⁾ vorgeschlagen.

III.

Einwirkung von Mineralsäure auf Cholesterindibromid.

Aus der oben erörterten Wirkung der Essigsäure auf das Dibromid ergibt sich zwar auch die Richtung der Wirkung

¹⁾ Siehe Biochem. Zeitschr. Bd. 83, S. 19 ff. (1917). ²⁾ Vergl. daselbst.

³⁾ Im Sinne einer „Metamorphose des Cholesterins“.

von Säuren überhaupt; es war indessen von Interesse, die Reaktion auch unter anderweitigen und verschiedenartigen Bedingungen zu studieren, um auch auf diese Weise zu sehen, inwiefern — namentlich hinsichtlich der Oxycholesterinbildung — die jeweiligen Effekte die oben gezogenen Schlüsse und die sich daraus ergebenden Anschauungen rechtfertigen. Daß Mineralsäuren auf das Dibromid wesentlich intensiver wirken müßten als Wasser, war vorausszusehen, zumal hier geeignete Bindungsmittel für die frei werdende Bromwasserstoffsäure, wie es beispielsweise bei den obigen Versuchen geschah, nicht in Anwendung gebracht werden konnten. Indessen konnte bei Anwendung von Salzsäure die Reaktion so weit geregelt werden, daß die Reaktionsprodukte gut isoliert und einem näheren Studium unterzogen werden konnten. Dabei hat sich nach einer Reihe von Versuchen folgendes Verfahren als recht zweckmäßig erwiesen:

1,0 g des reinen Dibromids wird in 50 ccm 90—95%igen kochenden Alkohols gelöst, zur heißen Lösung 1 ccm konzentrierte Salzsäure zugesetzt und das Gemisch nur 4 Minuten lang gekocht, wobei sich die farblos gewesene Lösung grünlich-gelb färbt. Ein längeres Kochen empfiehlt sich nicht, weil dabei eine tiefergehende Oxydation Platz greift, als es dem beabsichtigten Zweck dienlich ist. Das Gemisch wird dann rasch abgekühlt und in viel Wasser gegossen. Nach tüchtigem Umrühren erhält man ein hellgelbes kristallinisches Pulver, das gut und flott filtriert. Gut gewaschen, abgesaugt und im Vakuum von Feuchtigkeit vollständig befreit, läßt sich das noch bromhaltige Pulver längere Zeit aufbewahren.

Das Pulver enthält noch 23—25% unveränderten Dibromids. Es wird zu etwa 5% in 90%igem Alkohol gelöst, aus welchem sich der Bromkörper beim Stehen in der Kälte fast vollständig ausscheidet und abfiltriert werden kann. Das Filtrat, eingedampft, hinterläßt einen gelben, teils amorphen und teils kristallinischen Rückstand, der zu etwa gleichen Teilen aus Oxycholesterin und dem oben erwähnten Kristallkörper besteht. Der Rückstand wurde genau so behandelt, wie die im vorhergehenden Abschnitt (unter II 1 u. 2) erhaltenen Reaktionsprodukte

und ergab dieselben Bestandteile, d. h. Oxycholesterin und „Metacholesterin“. Demnach wirken auch Mineralsäuren in demselben Sinne — wenn auch stürmischer — wie Wasser.

IV.

Einwirkung von Alkalien auf Cholesterindibromid.

Viel rascher und vollständiger als mit Säuren vollzieht sich die Entbromung des Dibromids mit Alkalien. Da hier freie Bromwasserstoffsäure überhaupt nicht entstehen kann, und der dabei entstehende Br-freie Körper gegen Alkalien wesentlich widerstandsfähiger ist als gegen Säuren, so verläuft hier die Reaktion glatter und liefert auch ein einheitlicheres Reaktionsprodukt, als die vorhergehenden Operationen. Kocht man daher das Dibromid nur wenige Minuten mit alkoholischem Kali, so scheidet sich aus der zunächst klaren Lösung sehr bald — neben klaren, hellgelben Öltröpfchen¹⁾ — Bromkalium in bedeutender Menge ab. Verdünnt man dann das Gemisch mit etwa dem gleichen Volumen Wasser und schüttelt es mit Äther aus, so findet man in der Unterlage fast das gesamte Brom als Bromkalium wieder, während das gut gewaschene Ätherextrakt das bromfreie Reaktionsprodukt enthält. Ja selbst nach einer Kochdauer von nur 2 Minuten, wo das Gemisch noch fast völlig klar ist, erhält man einen fast bromfreien und sehr hellen Ätherextraktückstand mit sehr schönen und prägnanten Farb- und Spektralreaktionen²⁾.

So ergab 1,0 g Cholesterindibromid mit 25 ccm $\frac{1}{2}$ -alkoholischer Kalilauge, nach 5 Minuten Kochdauer, Ausätherung und Waschung des Extraktes mit Wasser, in den vereinigten wässrig-spirituösen Flüssigkeiten 27,6 % Brom vom angewendeten Dibromid (gegen 29,2 % des theoretischen Bromgehalts). Das Ätherextrakt hinterläßt — nach Beseitigung des Äthers — ein hellgelbes, dickflüssiges, stark klebriges und fadenziehendes

¹⁾ Die Ausscheidung findet nicht statt, wenn dem Gemisch ca. 10% Benzol zugesetzt werden. Die Reaktion geht dann noch glatter und einheitlicher vonstatten.

²⁾ Siehe diese weiter unten S. 290.

Öl, das beim Erkalten zu einer hellgelblichen, glasig durchsichtigen, amorphen, festen und spröden Masse erstarrt. Sie betrug 72,6 % vom Dibromid. Soweit sieht die Substanz genau wie Oxycholesterin aus; sie ist aber — im Gegensatz zu diesem — fast unlöslich selbst in kochendem Methylalkohol und nur sehr schwer und anscheinend nicht restlos löslich in heißem Äthylalkohol, aus dem sie sich in amorphen runden Kügelchen beim Erkalten größtenteils wieder ausscheidet. Löst man wenige Milligramme des Körpers in etwas Chloroform, verdünnt die Lösung mit dem doppelten Volumen Eisessig und setzt dann 8—10 Tropfen H_2SO_4 zu, so färbt sich das Gemisch nach und nach stark blutrot. Diese Reaktion ist aber nicht zu verwechseln mit der unter den gleichen Bedingungen ausgelösten Farbreaktion des Oxycholesterins. Denn während bei diesem die so hervorgerufene rote Farbe beim Stehen, durch blau und violett, schließlich echt grün wird und dabei ein den Farbenwandlungen entsprechend wandelbares Absorptionsspektrum zunächst im Gelb (auf Linie D) und dann im Rot (zwischen C und d) des Spektrums zeigt, ist die Reaktionsfarbe der neuen Substanz unveränderlich blut- bis karmoisinrot mit einem konstanten (unveränderlichen) Absorptionsspektrum hauptsächlich in Grün, Blau und Violett, also in der jenem Oxycholesterinspektrum entgegengesetzten Hälfte des kontinuierlichen Spektralbandes. Und zwar besteht dieses Absorptionsspektrum aus 1. einem breiten und tiefdunkeln, von etwas verschwommenen Rändern gut begrenztem Band in der Mitte des Grüns, 2. einem schwachen, schmalen Band zwischen Grün und Blau, und 3. einem breiteren und etwas stärkeren Band im Blau (am Violett). Im Gelb zeigt sich ein nur schwacher und schmaler Schatten, der anscheinend von einer kleinen Beimengung von eigentlichem Oxycholesterin herrührt. Auf Zusatz von 1 Tropfen Eisenchloridlösung ändern sich — im Gegensatz zur Essigschwefelsäure-Reaktion des Oxycholesterins — weder die Farbe noch das Spektrum in merklicher Weise, sondern sie verstärken sich nur.

Besonders auffallend ist es, daß die Hauptmenge der obigen mit Äther ausgezogenen organischen Substanz — wieder-

um im Gegensatz zum Oxycholesterin — keine Doppelverbindung mit Digitonin gibt. Zu 1 bis 2 % in 95 %igem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Digitoninlösung in der Wärme vermischt, fällt nach dem Erkalten und längeren Stehen eine nur geringe Menge Substanz aus, die aus dem Digitonid eines Nebenproduktes besteht, neben kleineren Mengen unveränderter Substanz, die mit Äther gewaschen werden können. 0,62 g des obigen Ätherrückstandes gaben 0,1339 g Digitonid, entsprechend ca. 0,0336 g = 5,4 % des neuen Körpers an mit Digitonin fällbarer Substanz. Engt man das Filtrat der Fällung stark ein, verdünnt es stark mit Wasser und schüttelt das milchigtrübe Gemisch mit Äther aus, so findet man im Ätherextrakt — nach Verjagen des Äthers — die Hauptmenge (gegen 95 %) des zur Fällung verwendeten neuen Cholesterinderivats in der oben geschilderten unveränderten aber reineren Form wieder.

Die neue Substanz gibt alle Reaktionen des Cholesterins; aber nicht die von mir seinerzeit bekannt gegebene „Reaktion auf Cholesterin durch Oxydation“¹⁾ desselben mit Benzoylsuperoxyd; das heißt: die Substanz gibt bei dieser Oxydation kein Oxycholesterin. Sie ist eine ungesättigte Verbindung, denn sie addiert schon in Form des rohen Ätherrückstandes bedeutende Mengen Brom. Einige damit ausgeführte Jodzahlbestimmungen nach Hübl ergaben Jodadditionen von 44 bis 49 % der angewendeten Substanzmengen. Oxycholesterin (oder ein etwaiges hier vermutetes Isooxycholesterin) würde, wie oben (unter II S. 282) angegeben, 63,18 % Jod addieren.

Indes handelt es sich hier ja um eine nur 5 Minuten lange Einwirkung von alkoholischem Kali auf das Dibromid, wo im Reaktionsprodukt noch etwa 2 % Brom verblieben sind. Aber auch dieser Bromrest läßt sich durch eine längere Kochdauer des Reaktionsgemisches aus dem Körper entfernen. So ergaben einige Versuche bei einer Kochdauer von 20 bis 30 Minuten in den ausgeätherten Unterlaugen 28,9 % Brom vom angewandten Dibromid (Theorie: 29,2 % Brom). Ein noch längeres

¹⁾ Berichte Bd. 41. S. 252 (1908).

Kochen scheint das Produkt in merklichem Grade nicht zu verändern, erhöht aber das Jodadditionsvermögen ganz bedeutend. So gab ein Reaktionsprodukt nach zweistündigem Kochen des Dibromids mit alkoholischem Kali eine Jodzahl von 59,8 %, was wahrscheinlich auch schon nach einstündigem Kochen der Fall ist. Ein zweiter Versuch ergab die Jodzahl 61,76 % Jod. Eine andere mit Digitonin, wie oben angegeben, gereinigte Substanz ergab die Jodzahl 64,2, also eine der Theorie für $C_{27}H_{46}O_2J_2$ noch näher kommende Zahl.

Kocht man dagegen das Dibromid mit verdünnter wäßriger Kalilauge, bis es sich zu gelben Klümpchen zusammenballt, was wesentlich rascher geschieht, als mit reinem Wasser, so enthält der Körper neben unverändertem Dibromid bedeutende Mengen des eigentlichen Oxycholesterins mit allen seinen charakteristischen Farb- und Spektralreaktionen.

Die Untersuchungen über die Natur des durch die Einwirkung von alkoholischem Kali auf das Cholesterindibromid entstandenen bromfreien Reaktionsproduktes, das, wie ersichtlich, mit keinem der oben erörterten Produkte identisch ist, sind noch nicht abgeschlossen und können daher zurzeit nicht erschöpfend erörtert werden. Aus den obigen Eigenschaften des Körpers lassen sich jedoch jetzt schon einige Schlüsse ziehen, die zur Aufklärung seiner chemischen Natur beitragen dürften.

Es unterliegt zunächst keinem Zweifel, daß die Einwirkung des Alkalis auf das Dibromid sich an den beiden ungesättigt gewesenen, mit Brom aber gesättigten C-Atomen abspielt, an denen die zwei Br-Atome hängen. Fest steht sodann nach den obigen Darlegungen, daß Wasser, wäßriges Alkali und verdünnte Säuren das Brom entfernen unter Bildung eines bromfreien, bereits bekannten ungesättigten Hydroxyderivates des Cholesterins, (des Oxycholesterins $C_{27}H_{46}O_2$). Außer Zweifel steht ferner, daß die in Rede stehende Einwirkung von alkoholischem Kali auf den Bromkörper einen in allen seinen Eigenschaften vom bekannten Oxycholesterin völlig abweichenden, aber gleichfalls ungesättigten und Br-freien Körper entstehen läßt, dessen Jodadditions-

vermögen dem des Oxycholesterins gleichkommt. Den Eigenschaften des neuen Körpers sowie dem Wesen der Reaktion nach, bei der er entsteht, ist es auch wohl kaum zu bezweifeln, daß auch hier ein Hydroxylderivat des Cholesterins vorliegt. Da es aber mit dem bekannten Oxycholesterin, wie gesagt, nicht identisch ist, so bleibt für die neue OH-Gruppe nur die Stelle an demjenigen der zwei ungesättigten C-Atome des Moleküls, das im eigentlichen Oxycholesterin-Molekül sauerstofffrei zu bleiben pflegt.

Die alkoholische Natur dieser neuen OH-Gruppe des neuen Cholesterinderivates, das mit dem Namen „Isooxycholesterin“ zu bezeichnen wäre, soll demnächst durch Herstellung seiner Ester usw. ermittelt werden. Aufzuklären bleibt auch die Nichtfällbarkeit des Körpers mit Digitonin. Bekanntlich pflegt diese negative Eigenschaft nur den Cholesterinestern zuzukommen. Ist hier das Entstehen eines Oxycholesterinesters ausgeschlossen, so wäre doch hier die Bildung eines Oxycholesterinäthyläthers nicht unmöglich, der analogerweise sich zu Digitonin ebenso verhielte wie die Ester. Auch das eigentümliche Verhalten zu Methyl- und Äthylalkohol als Lösungsmitteln würde dafür sprechen.

Daß die obige Auffassung von der Stellung der neuen dritten OH-Gruppe im Cholesterinmolekül zutreffend ist, folgt aus dem oben geschilderten Absorptionsspektrum des neuen Körpers in Verbindung mit den weiter unten niedergelegten Beobachtungen.

V.

Herstellung des Oxycholesterinbromids.

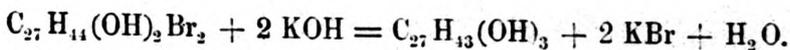
Wie oben (S. 282) dargetan, vermag das Oxycholesterin zwei Atome Brom zu addieren. Die daraus resultierende Verbindung ist aber so empfindlich, daß ihre Isolierung zunächst erhebliche Schwierigkeiten bereitete. Eine Reihe von Versuchen führte indes zu folgenden noch recht handlichen Verfahren:

Zu einer ätherischen Lösung von reinem Oxycholesterin wird eine frisch bereitete ätherische Bromlösung so lange

zugesetzt, bis das Gemisch sich nicht mehr entfärbt, sondern rötlichgelb bleibt, d. h. eben noch etwas überschüssiges Brom enthält. Es wird sofort über Wasser gegossen und die oben schwimmende ätherische Lösung am Gebläse rasch abgeblasen. Ist so der Äther beseitigt, so sinkt das Bromid in orangefarbenen Tropfen zu Boden, wobei es teilweise an den Gefäßwandungen haften bleibt. Das gelbe Wasser wird abgegossen, oder nötigenfalls filtriert, und das im Becherglase verbliebene Bromid mit Wasser gut ausgeknetet und abgespült, wobei es immer fester und starrer wird. Man läßt das Wasser möglichst vollständig abtropfen und gibt die auf dem Filter etwa noch verbliebene Substanz zur Hauptmenge in das Becherglas. Hier wird die Gesamtsubstanz in wenig kochendem absolutem Alkohol gelöst, abgekühlt, und die nunmehr vom überschüssigen Brom durch den Alkohol befreite (entfärbte) Lösung in kaltes Wasser eingetragen. Nach tüchtigem Durchrühren, unter Zusatz von etwas verdünnter Salzsäure, scheidet sich die Substanz in weißen Flocken ab, die leicht und rasch filtrieren und sich gut auswaschen lassen. Sie trocknet dann — mit dem Filter auf poröses Porzellan gebracht — zu einem blaßgelben Pulver ein. Die Substanz muß in wasserfreiem, vor Licht geschütztem Raum aufbewahrt werden.

Das so erhaltene Oxycholesterinbromid gibt nicht die Essigschwefelsäurereaktion des Oxycholesterins. Mit Eisessig gekocht, gibt es nicht die oben beim Cholesterindibromid geschilderte Farb- und Spektralreaktionen und gibt auch keine Doppelverbindung mit Digitonin. Zu alkoholischem Kali verhält es sich wie das Cholesterinbromid und liefert dabei wie dieses einen amorphen, harzartigen, fast bromfreien Körper. Er ist eine ungesättigte Verbindung, denn die durch Verseifung des Bromids und Ausätherung desselben gewonnene Substanz gab schon in diesem Zustande eine Jodzahl von 57,6 (Theor.: $C_{27}H_{46}O_3$ fordert für zwei Jodatome 60,7 % Jod). Löst man eine kleine Menge davon in etwas Chloroform, vermischt die Lösung mit etwa dem doppelten Volumen Eisessig, und setzt 8 bis 10 Tropfen H_2SO_4 hinzu, so färbt sich das Gemisch blut- bis karmoisinrot und liefert dabei ein sehr charakteristisches fünf-

bänderiges Absorptionsspektrum. Zwei von diesen Absorptionen (im Gelb und im Rot) gehören dem Spektrum des eigentlichen Oxycholesterins an, während die übrigen drei Bänder das oben geschilderte Absorptionsspektrum des neuen Cholesterinderivats, des „Isooxycholesterins“, ausmachen. Nach Zusatz eines Tropfens Eisenchloridlösung verschwindet — wie beim Oxycholesterin — die Absorption im Gelb unter Verstärkung der Absorption im Rot. Es mußte also demnach hier, da das eine der zwei ungesättigten C-Atome von vornherein mit dem Oxycholesterinsauerstoff bereits besetzt war, in das Oxycholesterindibromid, unter Eliminierung des Broms, ein zweites O-Atom an der zweiten Bromstellung eingetreten sein, unter Bildung eines Dioxycholesterins, das die beiden genannten Absorptionsspektren, des Oxy- und des Isooxycholesterins, in Erscheinung treten läßt.



Hieraus ergibt sich die Richtigkeit der am Schlusse des vorhergehenden Abschnittes dargelegten Auffassung von der OH-Stellung in dem aus dem Cholesterindibromid mit alkoholischem Kali erhaltenen neuen Körper.

Hamburg, im April 1919.