

Zusatz Informationen zu *Nachr. Chem.* 2023, 71/1, 30–32

Eric Täuscher* und Emma Freiberger

Die Chemikalien wurden, sofern nicht anders angegeben, in handelsüblicher Qualität eingesetzt. Aceton wurde vor der Verwendung an einem Rotationsverdampfer destilliert. Als Dünnschichtchromatographie Platten dienen handelsübliche, beschichteten DC-Aluminiumplatten (Merck Kieselgel 60 F254). Der Schmelzpunkt wurde auf einem Nagema PHMK 50 Gerät (VEB Kombinat Nagema) gemessen und ist korrigiert. Die Eutektika wurden auf einer Kofler Bank (Wagner und Munz) gemessen. Cholesterin **1** ist auch kommerziell erhältlich.

Die Infrarotspektren wurden nach der ATR-Methode („Attenuated total reflection“) auf einem FT/IR 6300 von Jasco gemessen. Die Wellenzahl ν der Absorptionsbanden wurde in cm^{-1} angegeben, wobei die Intensität zusätzlich in vs (sehr stark), s (stark), m (medium) und w (schwach) untergliedert wurde. ^1H und ^{13}C -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker Spectrospin 300 (300 MHz) oder Magritek Spinsolve 60 (60 MHz) bei Raumtemperatur gemessen. Die chemische Verschiebung δ der Signale wurde in ppm angegeben. Des Weiteren sind den einzelnen Signalen die Aufspaltung in s (Singulett), d (Duplett), t (Triplett), q (Quartett), oder m (Multiplett), die Kopplungskonstante J sowie das Integral beigefügt. Die Signale der Restprotonen der deuterierten Lösungsmittel dienten während der Messungen als Grundlage für die internen Standards (Chloroform- d_1).

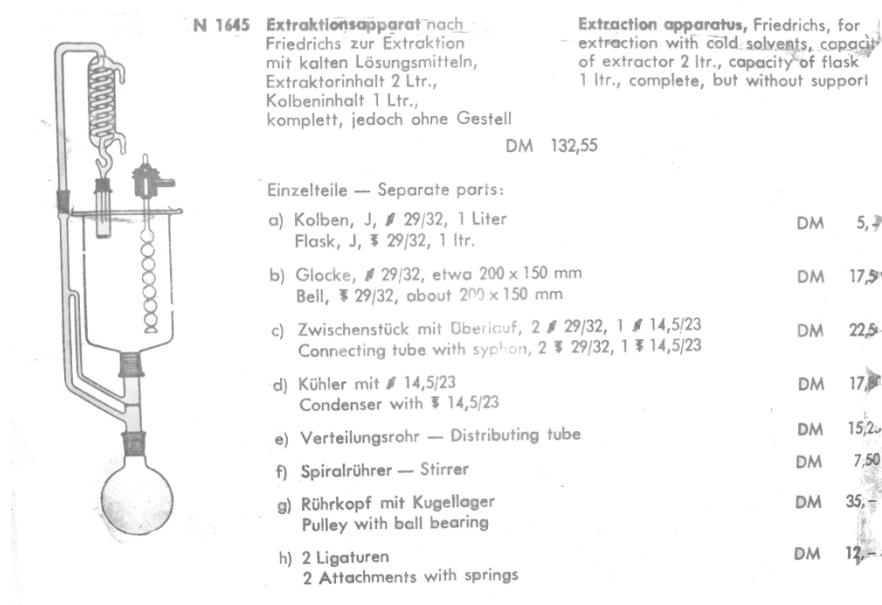


Abbildung 1 Skizze und Geräteaufbau der Kalt-Extraktion nach Friedrichs.

Methode der kontinuierlichen Extraktion nach Friedrichs mit *kaltem* Solvent: Der Aufbau einer etwas komplizierteren Apparatur, hat den Vorteil des ununterbrochenen Arbeitens. Es kann leicht von einem Glasbläser nachgebaut werden. Abbildung 1 zeigt den skizzenhaften und apparativen Aufbau. Wichtig ist das Rücklaufrohr mit viel Glaswolle zu beschicken um ein Verstopfen zu vermeiden. Die Füllmenge Aceton ist abhängig vom Volumen der Geräte. Laufzeit min. drei Stunden. Dann wird filtriert und das Solvent am Rotationsverdampfer abdestilliert. Die weiteren Schritte entsprechen der allgemeinen Beschreibung.

Kurze Beschreibung der nasschemischen Handversuche im Reagenzglas:¹

SALKOWSI-Test: ²



1-2 ml Chloroform werden mit einer Spatelspritze Cholesterin versetzt und gelöst. Dann wird vorsichtig mit dem gleichen Volumen an konz. Schwefelsäure unterschichtet (nicht schütteln). Die ober Schicht färbt sich langsam tiefrot und wird endlich fast Purpur. Die Schwefelsäureschicht fluoresziert (366 nm) grünlich/türkis. Wird ihr Eisessig zugesetzt, tritt ebenfalls Rotfärbung auf, die Fluoreszenz bleibt bestehen.

LIEBERMANN-BUCHARD-Test: ³



1 ml Chloroform wird mit Cholesterin versetzt und gelöst. Dazu fügt man ca. drei Tropfen Acetanhydrid und tropft dann konz. Schwefelsäure zu. Die Lösung färbt sich, oft sehr kurz, rosenrot, dann violett bis schließlich blaue, fast dunkelgrüne Farben erreicht werden. Die Farbausprägung ist konzentrationsabhängig.

TSCHUGAEFF-Test: ⁴



1-2 ml Eisessig werden mit einer Spatelspitze Cholesterin versetzt und ca. 10 Tropfen Acetylchlorid hinzugefügt. Nach Zugabe einer kleinen Menge Zinkchlorid wird gekocht nach 30 sec. Beginnt die schwache Rosafärbung, die sich bis „eosinrot“ vertieft.

Phosphormolybdänsäure Reagenz: (für die Dünnschichtchromatographie) ⁵

20 g Molybdätdiphosphorsäure werden in 100 ml Ethanol gelöst und satt aufgesprüht. Nach kurzen Abdampfen muss z.B. auf der Heizplatte entwickelt werden. Dazu empfiehlt sich Temperaturwahl 105°C bald entsteht ein gelber Hintergrund mit blauen Flecken. Der Hintergrund kann durch einstellen in Ammoniakdämpfe entfärbt werden.

Ein kurzes Video kann auf Youtube™ verfolgt werden, dort werden Extraktion und mehr gezeigt:

<https://www.youtube.com/watch?v=T9QJ3Sk2ENk>

NMR Daten Satz der gemessenen Spektren, an den Geräten.

¹H NMR (62 MHz, CDCl₃) δ = 5.32 (d, J = 4.36 Hz, 1H), 3.58 (dq, J = 11.87, 6.88 Hz, 2H), 2.63 – 0.74 (m, 42H), 0.66 (s, 3H). Enthält variierende Mengen Ethanol, vgl. Abb. 1.

¹³C NMR (16 MHz, CDCl₃) δ = 11,95; 18,82; 19,48; 21,18; 22,65; 22,91; 23,94; 24,38; 28,09; 28,32; 31,68; 31,99; 35,88; 36,29; 36,58; 37,36; 39,61; 39,88; 42,40; 50,23; 56,26; 56,85; 58,33; 71,76; 75,08; 77,12; 79,16; 121,69; 140,84. Enthält Ethanol, vgl. Abb. 2.

IR (ATR) = 3429 (br), 2928 (vs), 2864 (s), 1462 (m), 1359 (m), 1049 (s), 960 (w), 837 (w), 793 (w) 734 (vw). vgl. Abb. 6

^1H NMR (62 MHz,) δ 5.32 (d, $J = 4.36$ Hz, 1H), 3.58 (dq, $J = 11.87, 6.88$ Hz, 2H), 2.63 – 0.74 (m, 42H), 0.66 (s, 3H).

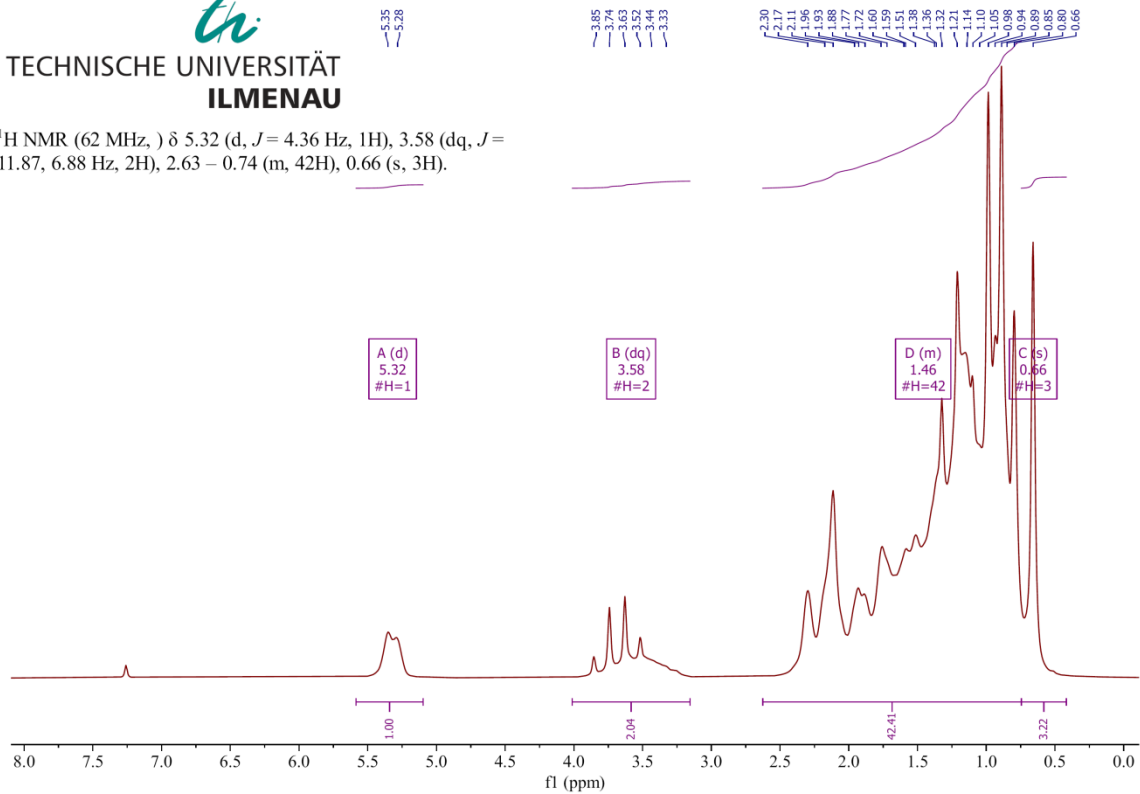


Abb 1 ^1H NMR-Spektrum von **1** gemessen am 60 MHz Magritek Gerät.

^{13}C NMR (16 MHz,) $\delta = 11.95, 18.45, 18.82, 19.48, 21.18, 22.65, 22.91, 23.94, 24.38, 28.09, 28.32, 31.68, 31.99, 35.88, 36.29, 36.58, 37.36, 39.61, 39.88, 42.40, 50.23, 56.26, 56.85, 58.33, 71.76, 75.08, 77.12, 79.16, 121.69, 140.84.$

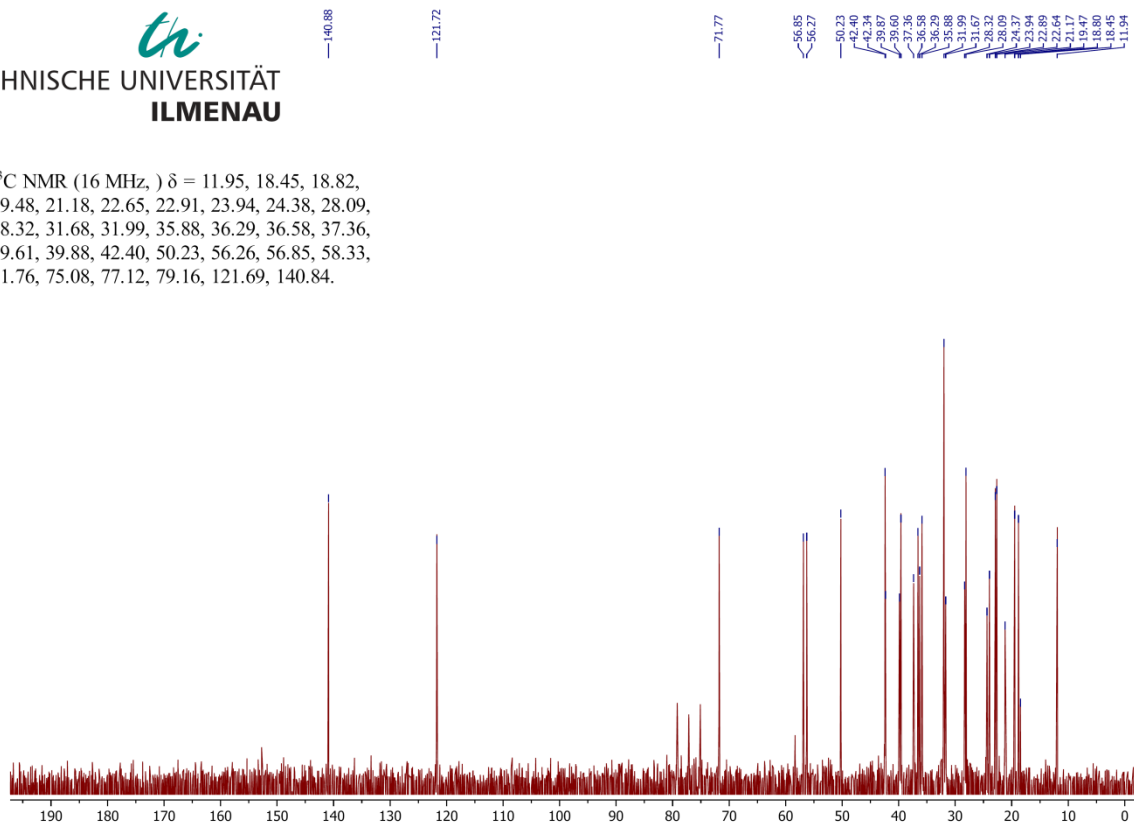


Abb 2 ^{13}C NMR-Spektrum von **1** gemessen am 60 MHz Magritek Gerät.

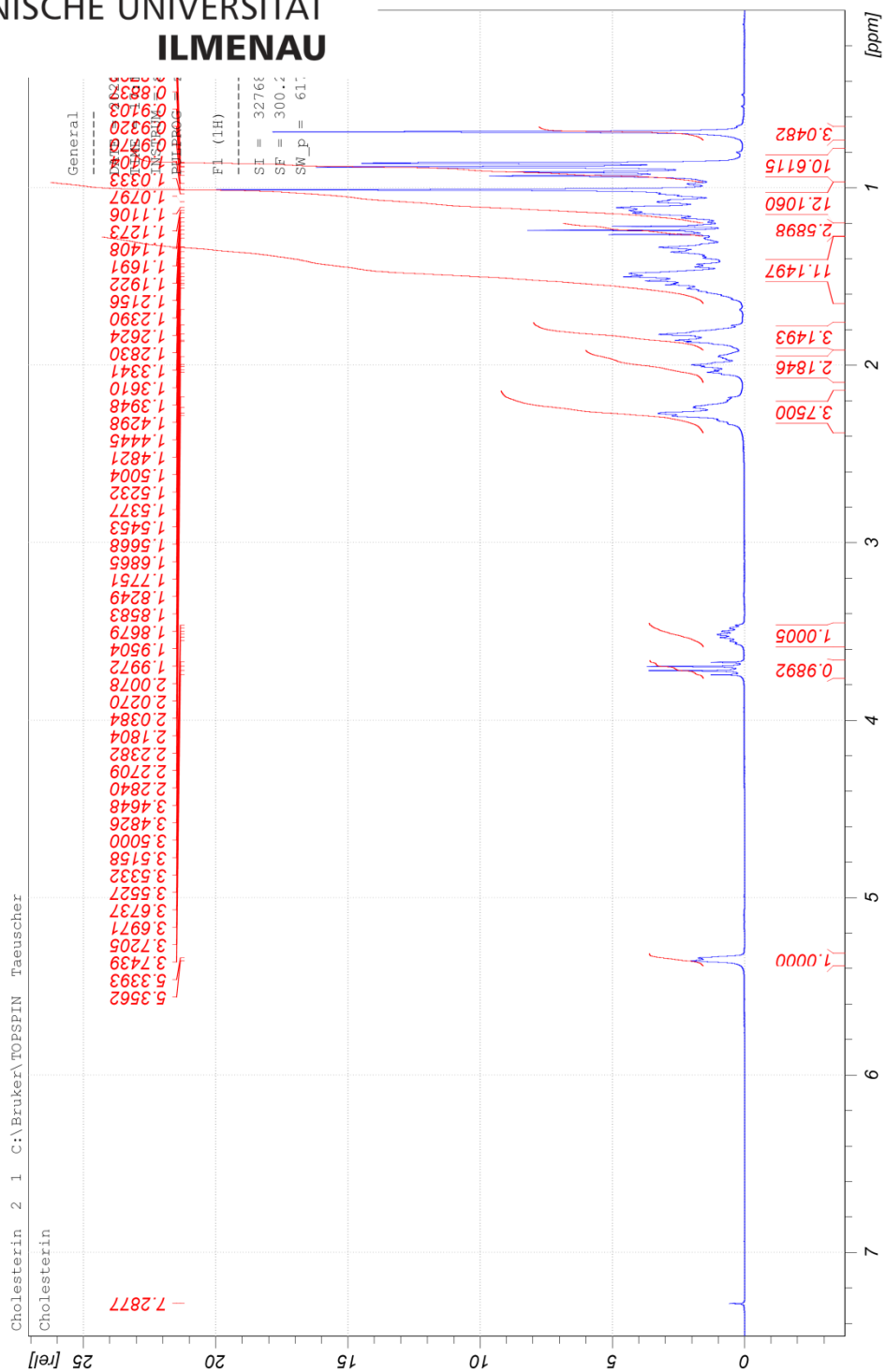


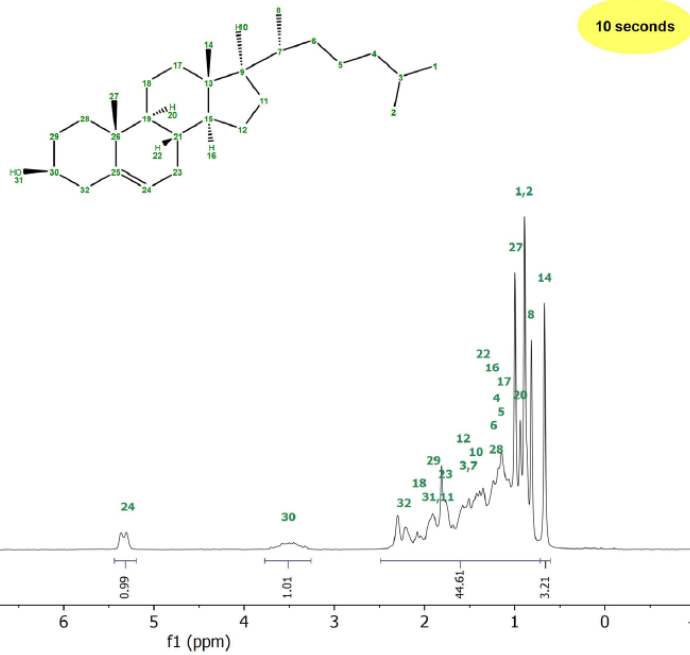
Abb 3 ¹H NMR-Spektrum von 1 gemessen am 300 MHz Bruker Gerät.

1D Proton spectrum



Cholesterol
 Solvent = CDCl₃
 Concentration = 250 mM
 Frequency = 80 MHz

1D Proton
 Number of scans = 1
 Repetition time = 10 s
 Pulse angle = 90°
 Total experimental time = 10 s



* residual solvent

Figure 1: ¹H NMR spectrum of 250 mM Cholesterol in CDCl₃ measured on a Spinsolve 80 MHz system in a single scan.

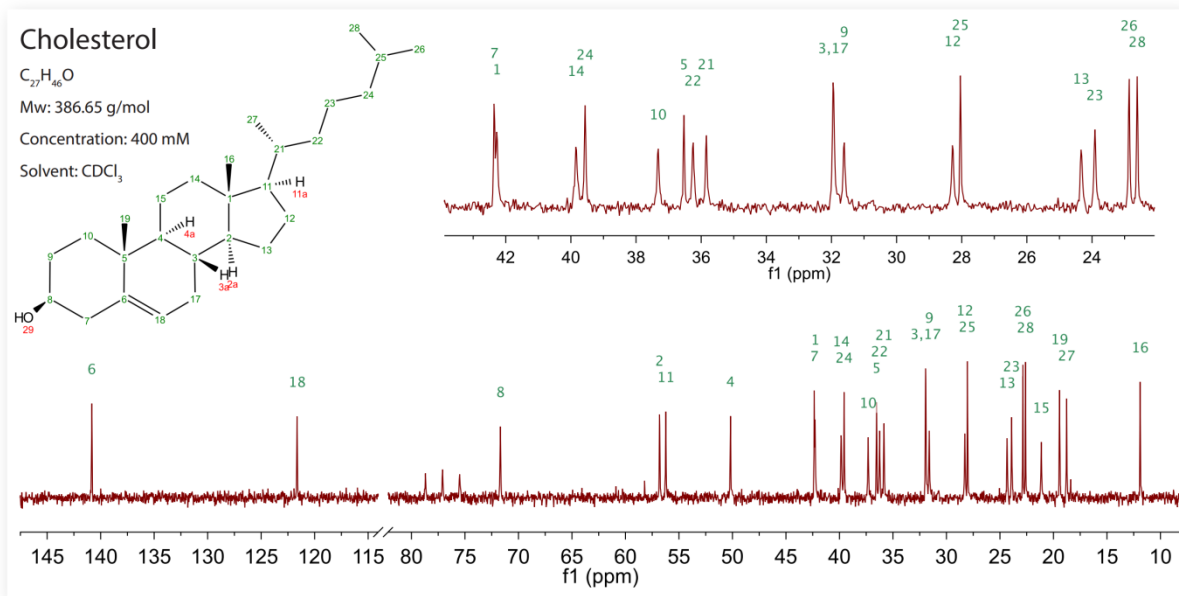


Abbildung 5. ¹H und ¹³C-NMR einer authentischen Referenz gemessen im Magritek 80 MHz.

(Reproduziert mit freundlicher Genehmigung) ⁶

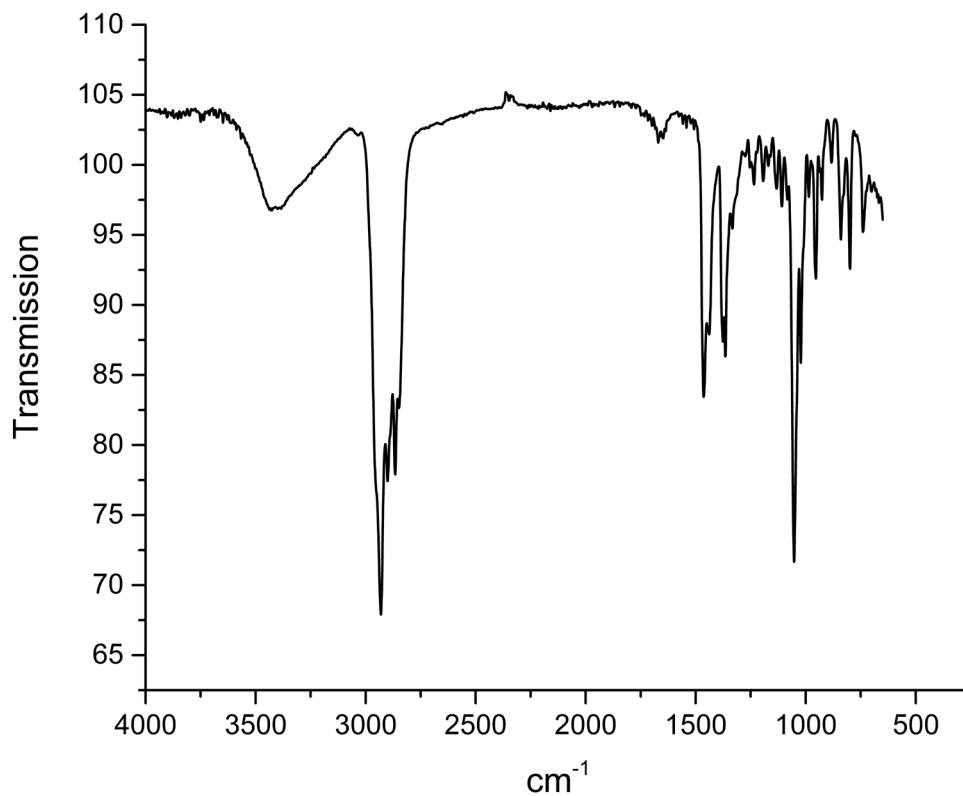


Abbildung 6 ATR Spektrum von **1**.

Literatur

1. Hoppe-Seyler, F.; Thierfelder, H. *Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse*, Springer Verlag, Berlin, zehnte Auflage, Dritter Band/Zweiter Bandteil, **1955**.
2. Salkowski, E. *Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie* 57, 523, **1908**.
3. Liebermann, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 18, 1803, **1885**.
4. Tschugaeff, L. *Z. Angw. Ch.* 618, **1900**.
5. Stahl, E. *Chromatographische und mikroskopische Analyse von Drogen*, Gustav Fischer Verlag, **1970**.
6. Magritek Homepage. <https://magritek.com/spectra/cholesterol-80-mhz-t1/>
Aufgerufen am 23.8.2022, Kopie davon in der Zusatz Information mit freundlicher Genehmigung.