Zur Ursache der Wasseraufnahmefähigkeit tierischer Fette, insbesondere des Wollfettes.

Von

I. Lifschütz in Hamburg.

(Der Redaktion zugegangen am 17. Februar 1921.)

I.

Durch die Entdeckung der Wasseraufnahmefähigkeit des Wollfettes durch Otto Braun¹⁾ war für mich das Reizvollste bei meinen Wollfettuntersuchungen die Ermittlung desjenigen Stoffes, der jener hervorstechenden und fast paradoxen Eigenschaft zugrunde liegt. Eingeleitet waren diese Wollfettuntersuchungen von L. Darmstaedter und mir gegen 1895; die Resultate dieser Arbeiten hatten wir in 6 Abhandlungen in den „Berichten“²⁾ niedergelegt. Solange uns der chemisch widerstandsfähigere und gut kristallisierende gesättigte Teil des aus überaus zahlreichen Bestandteilen zusammengesetzten Fettes beschäftigte, gelang es uns, eine stattliche Reihe teils aus anderen Fetten und Wachsarten her bekannter, teils neuer Fettsäuren und Alkohole der Fettreihe zutage zu fördern und deren chemisches Wesen präparativ darzutun und analytisch zu begründen. Es sind gut zu charakterisierende, hochschmelzbare, kristallinische Substanzen, die — mit einem beweglichen Fettkörper, wie Vaseline u. dergl., verschmolzen — keine oder nur geringe Neigung zeigen, Wasser aufzunehmen. Somit war die weitere Nachforschung nach der hydrophilen Substanz auf den ungesättigten Anteil des Wollfettes zu richten.

¹⁾ Deutsches Patent Nr. 22516 vom 20. Oktober 1882.

²⁾ Siehe dieselben: Jahrgänge 1896—1898.

Die Versuche, in das Wesen und die Ermittlung der Zusammensetzung dieses ungesättigten Teiles einzudringen, scheiterten jedoch an der hohen Empfindlichkeit der Substanzen chemischen Eingriffen gegenüber, sowie — mit Ausnahme des Cholesterins und des Isocholesterins — an der amorphen Form und der leichten Löslichkeit ihrer Bestandteile in fast allen organischen Lösungsmitteln. Der mutmaßlich ungesättigte Teil der Fettsäuren, die sogenannte „ölige Säure“¹⁾, insofern sie sich überhaupt isolieren ließ, zeigte sich gleichfalls als wasserfeindlich.

War nun auch der gesamte saure Teil aus diesen Untersuchungen ausgeschaltet, so konnten nur die ungesättigten Verbindungen des alkoholischen (unverseifbaren) Teils die hydrophile Substanz enthalten. Nach Abscheidung der nur sehr mangelhaft hydrophilen gesättigten Alkohole (z. B. des Ceryl- resp. Carnaubylalkohols) auch aus diesem Wollfettteil mittels Auskristallisieren aus verdünnter alkoholischer Lösung, konnte nunmehr an seinem Rest, nach dessen Verschmelzung mit Vaseline, eine starke Wasseraufnahmefähigkeit festgestellt werden.

Daß dieser Rest des Unverseifbaren kein einheitlicher Körper war, war selbstverständlich; denn er enthielt ja noch fast das gesamte Cholesterin und Isocholesterin. Da letzteres in warmem Methylalkohol fast unlöslich ist, so konnte es damit aus der Alkoholenmasse entfernt werden. Es ergab sich, daß auch dieser ungesättigte Alkohol so gut wie gar keine Hydrophilie besitzt. Nicht so einfach war die Abscheidung des Cholesterins aus dem nunmehrigen Rest des unverseifbaren Wollfettanteils. Dieser sonst so gut, rasch und schön kristalli-

¹⁾ Nach neuerer Bearbeitung dieses am tiefsten schmelzbaren (15 bis 20° C.) Wollfettanteils, in dem man eine Oleinsäure anzunehmen pflegt, ist der vielfach gereinigte Körper gar keine ungesättigte Verbindung. Denn er besitzt ein nur geringes Jodadditionsvermögen (Jodzahl 10—15, gegenüber der Oleinsäure mit der Jodzahl 90), das dem Spektrum seiner Cholestolreaktion gemäß, von kleinen Beimengungen einer Isocholesterinsäure herühren dürfte. Er gibt auch keine Oleinreaktion mit Chrom-Schwefelsäure. (Vgl. Diese Zeitschr. Bd. 56, S. 447 u. 451 [1908] unten; und Bd. 110, S. 29—40 [1920].)

sierende Körper, der zudem in heißem Alkohol ziemlich leicht, in kaltem dagegen schwer löslich ist, ist in Gegenwart der amorphen Wollfettalkohole auch in der Kälte leicht löslich; und was von ihm aus stark konzentrierten Lösungen sich ausscheidet, ist so wenig und das Wenige so schwer zu reinigen, daß die mit ihm vorgenommenen Versuche zu einwandfreien Schlüssen nicht berechtigten. Es mußte daher zu den Cholesterinpräparaten des Handels gegriffen werden, die — wenigstens was die Kristallform betrifft — mit dem vielfach umkristallisierten Cholesterin des Wollfettes identisch zu sein schienen.

II.

Aber die Versuche mit reinem Cholesterin der bekannten Firma C. A. F. Kahlbaum, Berlin, stellten mich damals schon vor ein neues Rätsel. Dieser äußerlich reine Körper, zu verschiedenen Zeiten bezogen, ergab nämlich keine konstanten Werte. Zu 2 % mit reinem Vaseline verschmolzen und mit Wasser verknetet, schwankten die maximalen Wasseraufnahmefähigkeiten der verschiedenen Sendungen zwischen 50 und 150 % Wasser vom Gewicht der Fettmischung. Da aber die von dem gesättigten Teil und vom Isocholesterin befreiten Wollfettalkohole unter denselben Bedingungen bei der Fettmischung eine Wasseraufnahmefähigkeit von 300 % und mehr Wasser hervorriefen, so konnte soweit mit einiger Sicherheit geschlossen werden, daß das eigentliche Cholesterin nicht — zum mindesten aber nicht allein — die Ursache der starken „Wassergier“ des Wollfettes sein kann.

Nach diesen Feststellungen reduzierte sich das Untersuchungsgebiet für die in Rede stehende Frage auf den am leichtesten löslichen amorphen Teil der Wollfettalkohole.

Um den kristallinen Teil (Cholesterin) dieser Restalkohole möglichst vollständig auszuschalten, wurde der nach dem oben angedeuteten Abscheiden der gesättigten Alkohole und des Isocholesterins verbliebene Rest durch wiederholte fraktionierte Fällungen aus alkoholischer Lösung mit Wasser und weitere Behandlung der letzten Fraktion mit Äthyläther

resp. mit Petroläther gereinigt¹⁾). Die so erhaltene letzte Fraktion, die ich mit „Fraktion II^c“ bezeichnete, war vollständig amorph, zähe, stark klebrig und gelb-durchsichtig und besaß in der Verschmelzung mit Vaseline eine sehr hohe Wasseraufnahmefähigkeit. Es erschien daher außer Zweifel, daß hier der Träger der Wassergier des Wollfettes vorliegen oder mindestens darin enthalten sein müsse. Um sich hierüber Gewißheit zu verschaffen, mußte zunächst der Frage der chemischen Natur dieser „Fraktion II^c“ nähergetreten werden. Daß hier etwa ein chemisch einheitlicher Körper vorliegen könnte, war von vornherein kaum anzunehmen. Hiergegen sprach auch die Tatsache, daß aus dem Stoffe nach seiner Behandlung mit Benzanhydrid im geschlossenen Rohr unter Druck (nach E. Schulze) eine relativ beträchtliche Menge Cholesterin und Isocholesterin als Benzoate gewonnen werden konnte²⁾. Indes konnte dies auch als Folge einer Abspaltung dieser Alkohole aus deren ätherartigen Verbindung mit einem noch unbekannten höheren Alkohol gedeutet werden³⁾. Versuche, durch Oxydation der genannten „Fraktion II^c“ mit Chromsäure in Eisessiglösung zu einer chemisch definierbaren Säure zu gelangen, wie ich sie bei den gesättigten Wollfettalkoholen mit Erfolg durchgeführt hatte, scheiterten an der obenerwähnten hohen Empfindlichkeit der Substanz gegenüber solchen chemischen Eingriffen. Diese Versuche zeitigten indessen eine unerwartete glückliche Erfahrung, die mir bei der weiteren Erforschung dieses problematischsten Wollfettanteils unschätzbare Dienste leistete und auch jetzt bei meinen Arbeiten auf dem Gebiete der Cholerinstoffe noch leistet.

III.

Die Mißerfolge, die mir die obigen Oxydationsversuche mit Chromsäure brachten, veranlaßten mich nämlich, als Oxydationsmittel Salpeter-Schwefelsäure in Anwendung zu bringen. Als Lösungsmittel für die Substanz wurde — wie oben — Eisessig verwendet. Ich war nun bei dem vorsichtigen

¹⁾ Siehe die oben S. 108 zitierten Berichte.

²⁾ Daselbst Bd. 31, S. 1124 ff. (1898).

³⁾ Daselbst.

Zusatz der ersten kleinen Portion Salpeter-Schwefelsäure zur Eisessiglösung bei gewöhnlicher Temperatur höchst überrascht, eine intensive und schöne Grünfärbung wahrzunehmen, die obendrein ein scharfes charakteristisches und gut gezeichnetes Absorptionsspektrum (im Rot des Spektrums) in Erscheinung treten ließ. Die Salpetersäure für sich gab — bei der weiteren Verfolgung dieser Erscheinung — keine ausgesprochene Färbung; wohl aber die konzentrierte Schwefelsäure. Wenige Milligramm der Substanz, in 2—3 ccm Eisessig gelöst, gaben auf Zusatz von 8—10 Tropfen Schwefelsäure zunächst eine schöne kirschrote Färbung (mit einem Absorptionsband im Gelb des Spektrums), die beim Stehen in ein echtes Sattgrün überging (mit einem starken und tief dunklen Streifen im Rot)¹⁾. Dieselbe Reaktion, mit reinem Cholesterin vorgenommen, fiel völlig negativ aus²⁾.

Die auffallende Ähnlichkeit dieser Essigschwefelsäurereaktion der „Fraktion II^c“ mit der bekannten Acetanhydrid-Schwefelsäurereaktion (Cholestolreaktion) des Cholesterins ließ von vornherein annehmen, daß in dieser Fraktion ein Cholesterinderivat vorliegen müßte. Die Elementaranalysen des Stoffes zeigten, daß er wesentlich sauerstoffhaltiger ist als Cholesterin, was auf ein neutrales Oxydationsprodukt des Cholesterins hindeutete. Die vielfachen jahrelangen Bemühungen, ein chemisch einigermaßen einheitliches Produkt aus diesem Stoffe zu isolieren, blieben fortdauernd erfolglos.

IV.

Ohne das Wesen dieses Stoffes vorderhand aufzuklären, gab mir seine neue Essigschwefelsäurereaktion ein wertvolles Instrument in die Hand, das mir bei der Wertbestimmung des Wollfettes für pharmazeutische und kosmetische Zwecke vortreffliche Dienste leistete. Seit 1895 war es mir nämlich be-

¹⁾ Daß bei der obigen ersten Erscheinung der Reaktion die Lösung sofort grün wurde, rührte von der oxydativen Wirkung der Salpetersäure her (siehe auch weiter unten S. 118, Anmerkung).

²⁾ Diese Reaktion veröffentlichte ich in der Deutsch. medicin. Wochenschrift 1897 Nr. 27.

kannt, daß die im Handel befindlichen gereinigten Wollfettarten, wie Lanolin, Adeps lanae, Vellolin-Döhrn u. dergl., in ihrem Vermögen, Wasser aufzunehmen, nie übereinstimmten. Ja, selbst Präparate einer und derselben Fabrik zeigen Schwankungen, die zwischen 100 und 300 % lagen. Das Vellolin nahm überhaupt kein Wasser auf, trotz seiner starken Cholestolreaktion (nach Liebermann), also seines erheblichen Cholesteringehalts¹⁾. An der Hand der obigen neuen Essigschwefelsäurereaktion konnte ich aber sehr bald feststellen, daß die „Wassergier“ eines jeweiligen Wollfettpräparats mit der Intensität jener Farbreaktion steigt und fällt. Sie wird = Null bei Wollfettarten (wie das Vellolin), wo diese Reaktion negativ ausfällt. Es drängte sich mir da der Gedanke auf, daß in dem auf Essigschwefelsäure in oben angedeutetem Sinne reagierenden Stoff, oder möglicherweise in einem steten, nicht leicht abzutrennenden Begleiter dieses Stoffes, der eigentliche Träger der Ursache der Wasseraufnahmefähigkeit des Wollfettes zu erblicken wäre (1898).

Im Laufe der Jahre hat es sich gezeigt, daß in diesem Gedanken, wie es ja dem Suchenden häufig begegnet²⁾, Irrtum und Wahrheit innig verwoben waren³⁾.

V.

Anhaltende Berufsangelegenheiten hielten mich lange Zeit fern von der weiteren Verfolgung des Problems, das ich erst gegen 1905 wieder aufnehmen konnte. Ich war da nämlich in die Lage gekommen, an einem unserer hervorragendsten Wollinstitute den chemischen und physikalischen Zustand und die Qualitäten des Wollsekrets (Wollfettes) gleichsam am lebenden Vlies zu studieren, und zwar wiederum an der Hand jener Farb- und Spektralreaktion mit Essigschwefelsäure.

¹⁾ Nebenbei, ein Beweis der geringen Hydrophilie des Cholesterins.

²⁾ Namentlich, wo es gilt, von einer Folge auf ihre Ursache zu schließen.

³⁾ Siehe weiter unten S. 119.

Betrachtet man einen noch zusammenhängenden Wollhaarstapel, wie er von der Schur kommt, so fallen an ihm folgende Eigentümlichkeiten auf: Die Wollhaare an den Wurzeln sind hell, fast weiß mit nur schwacher gelblicher Nuance; sie fühlen sich zwar fettig, aber nicht klebrig an und lassen sich voneinander leicht ablösen. Dagegen sind sie an den Spitzen dunkel- bis schwarzbraun, von hartem Griff, fühlen sich pechartig klebrig an und sind meist zopfartig fest zusammenhängend. Der Übergang dieser beiden extremen Zustände ineinander ist keineswegs kontinuierlich, sondern — je nach der Dichte der Haare — mitunter fast scharf voneinander unterscheidbar, d. h. je nach der Art der Lage, wo die betreffenden Stellen der atmosphärischen Einwirkung (der Luft, Feuchtigkeit und dem Licht) zugänglich oder davor geschützt sind. Am auffallendsten konnte ich dies beobachten an einem Stapel australischer (Merino-) Wolle, die ich auch zum Gegenstand so mancher Untersuchung wählte. Behufs Untersuchung der Fettarten dieser Wollart wurden die einzelnen Haarbüschel der Länge nach mit einer Schere in drei Teile geteilt, die Mittelstücke, die immerhin etwas von den beiden Endstücken gemischt enthielten, wurden unberücksichtigt gelassen; die Haarspitzen und Haarwurzeln aber — jedes für sich — mit Äther erschöpfend extrahiert.

Nach der Beseitigung des Lösungsmittels blieben die Wollfettarten als klar geschmolzene dickflüssige Öle zurück, die beim Erkalten zu festen Fetten von der bekannten zähen Wollfettkonsistenz erstarrten und ihrem Aussehen nach den geschilderten Wollhaaren vollkommen entsprachen. Das Fett der Haarwurzeln war von sehr heller gelblicher Farbe mit einem Stich ins Bräunliche, es war sehr cholesterinreich, zeigte aber eine nur geringe Farbreaktion mit Essigschwefelsäure und eine relativ mangelhafte Wasseraufnahmefähigkeit. Dagegen war das Spitzenfett von einem sehr dunkeln Kastanienbraun und wesentlich zäher und klebriger als das Wurzelfett. Es zeigte auch einen geringeren Gehalt an kristallinischem Cholesterin und gab eine sehr intensive Essigschwefelsäurereaktion, die einen hohen Ge-

halt an der oben erörterten amorphen „Fraktion II^c“ anzeigte. Demgemäß besaß es auch eine wesentlich höhere Hydrophilie.

Diese Befunde ließen nunmehr kaum einen Zweifel zu über den Ursprung und die elementare Natur jener amorphen „Fraktion II^c“. Was oben vermutungsweise angedeutet wurde, konnte nunmehr mit einiger Sicherheit aus den obigen Befunden geschlossen werden: daß nämlich die letzte Fraktion der Wollfettalkohole, wenigstens ihr auf Essigschwefelsäure reagierender Teil, nichts anderes sei, als ein durch Oxydation aus dem kristallinen Cholesterin hervorgegangener Abkömmling des letzteren. Ließ sich nun dieser Körper aus jener Fraktion auf analytischem Wege in erkennbar einheitlicher Form nicht isolieren, so war es nunmehr denkbar, doch auf synthetischem Wege, d. h. durch direkte Oxydation des reinen Cholesterins, zu jenem seinem Derivat zu gelangen.

VI.

Dieser Gedankengang erfuhr schon durch den ersten Versuch seine volle Bestätigung (1907). „Beim Einwirken von verdünnter Permanganatlösung (in starker Essigsäure) auf eine etwa 4%ige Cholesterinlösung in Eisessig bei Wasserbadtemperatur“ entstand (nach dem Abfiltrieren des MnO_2) eine gelblich gefärbte Lösung, die auf Zusatz von einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure eine starke und schöne kirschbis violettrote Färbung gab, die beim längeren Stehen echt grün wurde und während der Farbenwandlung die oben angedeuteten Spektralabsorptionen zeigte, wie die gereinigte „Fraktion II^c“ der Wollfettalkohole¹⁾.

Daß der auf Essigschwefelsäure reagierende unverseifbare Körper von alkoholischer Natur sein muß, war mir seit der Entdeckung dieser neuen Reaktion unzweifelhaft. Denn diejenigen Wollfettpräparate, in denen dieser Körper an die hochmolekularen Fettsäuren (offenbar als Ester) gebunden ist und die daher diese Reaktion nicht geben, reagieren nach ihrer bekannten Verseifung, und zwar in ihrem alkoholischen

¹⁾ Vgl. Diese Zeitschr. Bd. 50, S. 437 (1907).

Teil, ausgesprochen scharf auf Essigschwefelsäure, während reines Cholesterin bei der gleichen Behandlung mit Alkalien darauf in merklicher Weise nicht reagiert, so daß von einem etwaigen Entstehen des Körpers bei der Verseifung gar keine Rede sein kann. Demnach und angesichts der obigen Befunde an den Fettarten der Merinowolle, hat man es in der „Fraktion II^c“ offenbar mit einem alkoholartigen hydroxylierten Oxydationsprodukt des Cholesterins zu tun, also mit einem „Oxycholesterin“. Diese Bezeichnung sowie die ganze Auffassung von diesem Körper haben sich im Laufe der weiteren Untersuchungen vollauf bestätigt.

Noch stand es freilich nicht fest, wieviel Hydroxyle in das Cholesterinmolekül durch die Oxydation desselben eingetreten sind, resp. welche räumliche Stellung diese (OH)-Gruppen im Molekül einnehmen. Gelang es aber, diesen Körper auf synthetischem Wege aus reinem Cholesterin herzustellen und das so erhaltene „Oxycholesterin“ mit jenem der „Fraktion II^c“ der Wollfettalkohole — wenigstens qualitativ — zu identifizieren, so war nunmehr die Mühe berechtigt und geboten, der Aufklärung seiner chemischen Natur mit besserem Erfolg als bisher näherzutreten, um alsdann am unzweifelhaft einheitlichen Körper sein Verhalten zu Wasser in dem in Rede stehenden Sinne zu prüfen. Indes, so wertvoll das oben angedeutete Verfahren zur Oxydation des Cholesterins mit Permanganat für den ersten Nachweis auch war, so war es doch ursprünglich als präparative Maßnahme zu unsicher und mit so manchen Mängeln behaftet, um es für die Herstellung eines reinen und einheitlichen „Oxycholesterins“ zu gebrauchen. Es galt daher, nach anderweitigen, mehr Erfolg versprechenden Mitteln zu suchen, die sich auch bald einfanden. Als ausgezeichnet milde und doch nach Wunsch wirksame Oxydationsmittel für das Cholesterin ergaben sich die organischen Peroxyde, vor allem das Benzoylsuperoxyd in Eisessiglösung, oder — noch besser — in neutralen Lösungsmitteln ¹⁾).

¹⁾ Siehe Berichte Bd. 41, S. 252 (1908) und Diese Zeitschr. Bd. 106, S. 286 (1919).

VII.

So standen die Ermittlungen gegen Mitte des vorigen Dezenniums, als ein weiterer Gedankengang zu interessanten neuen Befunden führte, die diesen Untersuchungen einen neuen Reiz verliehen. Führten mich auch diese neuen Befunde auf einen Nebenpfad, so kreuzte dieser keineswegs den alten, seit vielen Jahren eingeschlagenen Weg, sondern lief mit ihm in überraschend ergänzender Weise parallel. Es ist dies die un-gemein reizvolle Aufgabe zur Erforschung des Schicksals — besser gesagt: des Chemismus — des Cholesterins in den tierischen Organen. Eine kurze Andeutung dieser Befunde möge hier ihren Platz finden.

Die erwähnten Beobachtungen in den Fettarten der australischen Merinowolle setzten, wie schon dort oben angedeutet, außer Zweifel, daß während des Wachstums der Wollhaare das darin enthaltene Schweißfett mitsamt seinem Cholesterin unter dem Einfluß von Licht, Luft und Wasser in Gegenwart von Kalisalzen einer starken Oxydation unterworfen sein muß. Der fernere Befund der raschen Umwandlung des Cholesterins in seine Oxyverbindung durch Sauerstoff leicht abgebende Substanzen, wie Permanganat, namentlich aber durch Benzoyl-superoxyd, legte den früher schon aufgetauchten Gedanken noch näher, daß dieser Oxydationsprozeß auch in den inneren tierischen Organen und Geweben, vorzüglich aber im Blut, vor sich gehen mußte. Ist doch das Blut ein alkalisches Gewebe und enthält auch einen Sauerstoff (noch leichter als die obigen Substanzen) entlassenden Körper: das Oxyhämoglobin. Ein Versuch mit vorsichtig eingetrocknetem Rinderblut und Extraktion des feingemahlenen Trockenblutes mit Äther ergab auch ein stark dunkelbraunes, den Stempel starker Oxydation tragendes Fett, das schon in rohem Zustande in Eisessiglösung mit einigen Tropfen H_2SO_4 eine sehr intensive, echt grüne Lösung mit dem starken Absorptionsspektrum im Rot gab, wie es das Oxycholesterin, namentlich nach Zusatz von etwas Eisenchloridlösung zum Reaktionsgemisch, gibt. Nach der Verseifung des Fettes und Ausätherung des Saponifikates

erhielt ich ein hellgelbes wachsartiges Unverseifbares, das 35 % vom Fett betrug und etwa 70 % Cholesterin enthielt. Wenige Milligramme dieser Substanz in etwas Chloroform gelöst und mit etwa dem doppelten Volumen Eisessig vermischt, gaben auf Zusatz von einigen Tropfen H_2SO_4 die oben geschilderte Oxycholesterinreaktion, die mit Violettrot einsetzte und beim längeren Stehen (oder auf Zusatz von einem Tropfen Eisenchloridlösung auch sofort) intensiv und echt grün wurde¹⁾.

Die Tragweite dieses Befundes für das Schicksal des Cholesterins in den tierischen Organen sowie für seine Bedeutung bei der Ernährung des tierischen Organismus erschien klar genug, um einen neuen Ansporn abzugeben zur weiteren Verfolgung und Aufklärung der chemischen Natur dieses neuen Cholesterinoxydates.

VIII.

Mit Benzoperoxyd, wie angedeutet, hergestellt und vom überschüssigen Peroxyd, Benzoesäure u. dergl.¹⁾ getrennt, wurde der Körper durch wiederholte fraktionierte Fällungen aus methylalkoholischer Lösung mit Wasser, wobei er in Lösung zu bleiben pflegt, so lange gereinigt, bis seine Essigschwefelsäure-Reaktion in ihrer Spektralintensität rund 1:50000 betrug. Da nämlich das gesuchte Oxycholesterin amorph und harzartig ist, Kristallform und scharfen Schmelzpunkt nicht besitzt und daher ein einwandfreies Merkmal seiner chemischen Einheitlichkeit nicht lieferte, so wurde hierfür die minimale Spektralintensität (Grenzspektrum) seiner Farbreaktion als Konstante herangezogen. Als sehr brauchbares weiteres Hilfsmittel zum Zwecke der Reinigung dieses Oxykörpers diente mir seine Doppelverbindung mit Digitonin, die sehr schön kristallisiert und sich gut umkristallisieren läßt. Zahlreiche Elementaranalysen des Oxykörpers und seines Digitonids sowie die spektrometrische (quantitative) Bestimmung der Oxycholesterinkomponente des letzteren führten zur Formel

¹⁾ Siehe Diese Zeitschr. Bd. 53, S. 142—144 ff. (1907). Die sofortige grüne Farbe, die das rohe Fett gab, rührte von seinem oxydierend wirkenden Eisenoxydgehalt her. (Vgl. oben S. 112, Anmerkung 1.)

$C_{27}H_{46}O_2$ ¹⁾. Der Körper hat also nur ein Sauerstoffatom mehr als das Cholesterin. Daß dieses neue O-Atom einer alkoholartigen Hydroxylgruppe angehört, wurde unter anderem durch sein Di-benzoat erwiesen²⁾.

IX.

Nunmehr war ich in die Lage gekommen, den einheitlichen, auf Essigschwefelsäure scharf reagierenden Körper auf sein Verhalten zu Wasser nach seiner Verschmelzung mit wasserfeindlichen Fetten einwandfrei zu prüfen. Ich war dabei enttäuscht, festzustellen, daß die betreffenden Fettgemische eine nennenswerte Wasseraufnahmefähigkeit nicht zeigten.

Da lag der Irrtum jenes Satzes klar zutage, wonach die „Wassergier“ des Wollfettes auf seinem Oxycholesteringehalt beruhen sollte³⁾. Freilich blieb — trotz dieser Enttäuschung — die Tatsache bestehen: daß diese Wassergier des Fettes mit der Intensität seiner Oxycholesterinreaktion steigt, fällt und mit ihr sogar ganz erlischt⁴⁾. Dabei reifte aber auch jene weitere Annahme zur Gewißheit heran, daß die gesuchte Substanz zum mindesten ein steter, schwer abzutrennender Begleitstoff des Oxycholesterins sein muß, der gleichzeitig mit dem letzteren aus dem Cholesterin durch Oxydation desselben entsteht und mit ihm in ursächlichem Zusammenhang stehen muß. Auf diese Weise wäre die Erklärung gegeben, daß die Oxycholesterinreaktion nur die Höhe der Oxydation des Cholesterins anzeigt, durch die jener unbekannte hydrophile Körper in größerer oder geringerer Menge entsteht, der nun beim Fett eine entsprechende Wasseraufnahmefähigkeit hervorruft.

Die Bewahrheitung dieser Annahme ließ zwar lange auf

¹⁾ Siehe „Berichte“ Bd. 47, S. 1453 ff. (1914), wo Herstellung, Reinigung und Analysen dieses Körpers veröffentlicht sind.

²⁾ Siehe Diese Zeitschr. Bd. 96, S. 342 ff. (1916). Neuerdings wurde auch die räumliche Stellung dieser OH-Gruppe im Molekül eingehend örtert. (Siehe daselbst Bd. 106, S. 271 ff. [1919].)

³⁾ Siehe oben S. 113.

⁴⁾ Daselbst.

sich warten. Sie ergab sich jedoch schließlich bei den weiteren Untersuchungen über die Natur des Oxycholesterins.

X.

Gelegentlich meiner Untersuchungen über die Entstehung von Oxycholesterin bei der Entbromung des Cholesterin-dibromids mit Natriumacetat in wäßrigspirituöser Lösung beobachtete ich nämlich wiederholt beim Behandeln des Reaktionsproduktes in methylalkoholischer Lösung — neben dem gelösten bromfreien amorphen Oxycholesterin — eine Abscheidung von mohnkornförmigen weißen Kriställchen, die, vom Oxykörper getrennt, beim mehrmaligen Umkristallisieren immer größer und glänzender werden. Bei diesen Reaktionsverhältnissen und diesem Ausgangsmaterial war nicht ohne weiteres anzunehmen, daß die Kriställchen regeneriertes eigentliches Cholesterin seien. Nähere aufmerksame Untersuchungen ergaben bald, daß hier ein in Kristallform, Löslichkeit, Schmelzpunkt usw. vom Cholesterin wesentlich abweichender Körper vorliegt, obschon er sonst äußerlich dem Cholesterin täuschend ähnlich ist ¹⁾.

Die Tatsache, daß hier in überwiegender Menge Oxycholesterin entstanden ist, was auf eine Art von Oxydationsprozeß hindeutete, ließ vermuten, daß man zu diesem Körper auch durch direkte Oxydation des reinen Cholesterins gelangen könnte. Der Versuch bestätigte es: Nach dem Kochen einer 2%igen Cholesterinlösung in 95%igem Spiritus mit der entsprechenden Menge Benzoperoxyd, bis eine isolierte Probe deutlich auf Oxycholesterin (mit Essigschwefelsäure) reagierte, konnte jener Cholesterinkörper leicht abgeschieden und mit dem obigen aus dem Dibromid erhaltenen Körper identifiziert werden ²⁾.

¹⁾ Die qualitativen und quantitativen Einzelheiten über die Entstehung und die Natur dieses Körpers siehe Diese Zeitschr. Bd. 106, S. 284—287 (1919).

²⁾ Siehe daselbst, wo Herstellung und Reinigung dieses Körpers eingehend beschrieben sind.

Für diese offenbar neue Cholesterinart habe ich an der eben zitierten Stelle den Namen „Metacholesterin“ vorgeschlagen.

Da ich nun diesen Körper, den ich in derselben Form auch in den tierischen Organen und Geweben, namentlich im Blut neben Oxycholesterin beobachtet habe, ihn bislang nur mit Oxydationsmitteln aus dem eigentlichen Cholesterin habe herstellen können, und er wohl auch im Blut durch Oxydation entsteht: so erinnerte mich unwillkürlich diese Erscheinung an den oxydativen Vorgang auf der Oberfläche des Schafvlieses. Bekräftigt wurde diese Analogie durch den Habitus des Blutfettes, dessen Geruch, Aussehen und hoher Gehalt an wasserunlöslichem Unverseifbaren dieses Fett dem Wollfett sehr ähnlich machen. Außerdem besitzt auch das Blutfett häufig eine sehr hohe Wasseraufnahmefähigkeit. Alles dies veranlaßte mich, das künstlich aus reinem Cholesterin hergestellte „Metacholesterin“ auf sein Verhalten zu Wasser zu prüfen. Die reinen Metacholesterinkristalle wurden zu diesem Ende zu 2 % mit reinem Vaseline verschmolzen und mit Wasser in kleinen Portionen verrieben. Nach und nach konnten dann nicht weniger als 500 bis 600 % Wasser dem Fettkörper einverleibt werden. Ein parallel vorgenommener Versuch mit einem aus Eidotter stammenden Cholesterin ergab unter denselben Bedingungen eine Hydrophilie von nur 30 % Wasser, die sich auch nach der weiteren Reinigung dieses Cholesterins nicht erhöhte.

Zeigten sich die Unterschiede zwischen der neuen Cholesterinform und dem eigentlichen Cholesterin in den entsprechenden Kristallformen sowie in ihren Schmelzpunkten und in denen ihrer Acetate deutlich genug: so mußte der unerwartete Sprung des neuen Körpers im Verhalten seiner Fettmischungen zu Wasser um das 20fache seine Verschiedenheit von Cholesterin außer jeden Zweifel setzen.

Als schnell entscheidendes Merkmal des „Metacholesterins“ benutzte ich neben der Hydrophilie seine schöne und charakteristische Kristallform, in der es sich aus Lösungen in 90-

bis 95 %igem Alkohol ausscheidet. In starker mikroskopischer Vergrößerung erscheinen die Kristalle als dünne große Schuppen mit oval (elliptisch) gebogenen Rändern, im Gegensatz zu den bekannten Cholesterintafeln, die stets streng rhombische (geradlinige) Formen zeigen.

Mit diesen beiden Merkmalen (Hydrophilie und Kristallform) an der Hand untersuchte ich die Cholesterinarten verschiedener tierischer Organe und Gewebe. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Biochem. Zeitschrift (Bd. 83, S. 18 ff.) niedergelegt. Drei dieser Befunde dürften hier von Interesse sein. So ergab das Eieröl fast durchweg rhombisches, also eigentliches Cholesterin; das Blutfett fast durchweg, mindestens aber in weit überwiegender Menge, elliptisches „Meta-cholesterin“, während das Gehirnfett beide Cholesterinarten zu etwa gleichen Teilen enthielt. Dementsprechend zeigten sich auch die Wasseraufnahmefähigkeiten dieser Cholesterinarten: Zu 2 % mit Vaseline verschmolzen, nahm das Gemisch mit dem Eiercholesterin kaum 30 % Wasser auf; dagegen ließen sich dem Blutfettcholesteringemisch über 500 % und dem Hirncholesteringemisch 250—300 % Wasser einverleiben.

Durch diese Befunde löstete sich zunächst das oben geschilderte Rätsel, wonach die zu verschiedenen Zeiten vom Handel bezogenen, anscheinend reine und einheitliche Cholesterinpräparate, verschiedene, mitunter weit auseinanderliegende Zahlen ihres Vermögens, Wasser aufzunehmen, lieferten. Die endgültige Aufklärung ergab sich erst durch folgende Feststellungen: Im Frühjahr 1917 bezog ich von C. A. F. Kahlbaum, Berlin, wiederum ein Cholesterinpräparat und bat die Firma, mir die Herkunft der Sendung anzugeben. Es wurde mir auch bald darauf der Bescheid, daß der Körper „aus Tierhirnen hergestellt“ sei. Er sah schneeweiß und großblättrig aus, zeigte aber einen vom eigentlichen Cholesterin abweichenden Schmelzpunkt. Zu 2 % mit reinem weißen Vaseline verschmolzen, nahm er diesmal mit Leichtigkeit über 300 % vom Gewicht der Schmelze an Wasser auf. Ein Ergebnis, das ich vor etwa 15 Jahren an den verschiedenen Präparaten dieser Firma in dieser Höhe nie beobachtet hatte,

das aber mit meinen obigen Beobachtungen an Hirncholesterinen übereinstimmte.

Nun besaß ich zur selben Zeit ein Cholesterinpräparat von einer Lezithinfabrik, die Lezithin aus Eieröl herstellt, von dem das Cholesterin als Abfallprodukt erhalten wird. Auch dieser Körper sah sehr schön und rein aus. In obiger Weise mit Vaseline verschmolzen, nahm aber die Schmelze nur 30 % Wasser auf, was wiederum meine oben erwähnten Beobachtungen bestätigte. Nach dem wiederholten Umkristallisieren dieses Körpers aus Alkohol lieferte er genau dasselbe Resultat. Wurde er aber nach dem oben zitierten Verfahren mit Oxydationsmitteln behandelt, so nahm er über 500 % Wasser auf. Die Kristalle wären dann aber nicht mehr rhombisch, sondern elliptisch. Des Rätsels Lösung war also die, daß das Kahlbaumsche Präparat (als Hirncholesterin) stark „metacholesterinhaltig“, während das zweite Eieröl-Cholesterin war und als solches fast reines eigentliches (rhombisches) Cholesterin darstellte.

Da nun, wie oben bereits angedeutet, unter gewissen physiologischen Bedingungen (vielleicht auf der Höhe des Verdauungsprozesses) das mikroskopische Bild des Blutcholesterins fast durchweg das des elliptischen Metacholesterins ist, d. h. daß das Blut unter den übrigen Organen und Geweben das meiste davon enthält, und das Cholesterin in diesem Gewebe fraglos starken oxydativen Einwirkungen unterliegt, so war die oben angedeutete Analogie dieses Oxydationsprozesses mit dem des Fettes auf der Oberfläche des Schafvlieses kaum noch von der Hand zu weisen. Es mußte demnach vielmehr einleuchten, daß durch diese oxydative Einwirkung das Cholesterin des Wollschweißes, bevor es in die Cholesterinoxidate übergeht, teilweise in „Metacholesterin“ verwandelt wird, das der hohen „Wassergier“ des Wollfettes zugrunde liegt.

Nunmehr fiel es mir nicht schwer, in den aus verschiedenen Wollfetten isolierten Cholesterinpräparaten mikroskopisch, neben rhombischem Cholesterin, mehr oder weniger vom elliptischen „Metacholesterin“ nachzuweisen, dessen Mengen auch die variierenden Wasseraufnahmefähigkeiten entsprachen.

Somit hat durch die Auffindung des Metacholesterins und die Ermittlung seiner stark wasserbindenden Eigenschaft auch die Ermittlung des Hauptträgers — wenn nicht gar des alleinigen Trägers — der Hydrophilie des Wollfettes ihren erhofften Abschluß gefunden.

Freilich bleiben noch im amorphen Teil der Wollfettalkohole — außer dem nicht hydrophilen Oxycholesterin — noch manche unerforschte Substanzen, wie weitere neutrale Oxydate des Cholesterins und der Ölsäure sowie Kohlenwasserstoffe, die an der Hydrophilie des Wollfettes möglicherweise beteiligt sein könnten. Die Kohlenwasserstoffe betreffend, habe ich namentlich an Vaselinearten vor etwa 11 Jahren nachgewiesen, daß man durch Oxydation derselben mit Peroxyden auch bei ihnen eine erhebliche Wasseraufnahmefähigkeit hervorrufen kann¹⁾. Indes, soweit meine bisherige Erfahrung reicht, scheint dies selbst bei den Kohlenwasserstoffen des Wollfettes nicht der Fall zu sein. Fällt man nämlich aus der (letzten) stark hydrophilen „Fraktion II^c“ der Wollfettalkohole die Cholesterinstoffe mit Digitonin aus, so findet man im alkoholischen Filtrat — neben etwas Oxycholesterin — einen mit Digitonin nicht fällbaren Rest, der ja die Kohlenwasserstoffe und auch die übrigen Nichtcholesterine usw. enthalten muß, der aber bei wasserfeindlichen Fetten keine nennenswerte Hydrophilie mehr hervorzurufen vermag.

Schlußsätze.

1. Der eigentliche Träger der Wasseraufnahmetätigkeit des Wollfettes ist weder in seinen neutralen Estern, noch — im gespaltenen Fett — in seinem sauren Teil anzutreffen; er ist nur in seinem unverseifbaren Teile enthalten.

2. Aber auch in diesem alkoholartigen Teil sind weder die gesättigten Alkohole (Ceryl- und Carnaubylalkohol) noch das eigentliche (rhombische) Cholesterin, noch das Oxycholesterin als der eigentliche Grund der Wassergier des Wollfettes anzusprechen. Dazu ist die Neigung dieser Körper,

¹⁾ Vgl. die deutschen Patente Nr. 197662 und 205428.

bei wasserfeindlichen Fetten eine namhafte Hydrophilie hervorgerufen, viel zu gering. Diese bewegt sich bei 2%iger Verschmelzung jener Körper mit Vaseline nur zwischen 30 und 40% an Wasser vom Gewicht der Fettmischung.

3. Als Hauptträger (wenn nicht gar als alleiniger Träger) der hohen „Wassergier“ des Wollfettes ist das sogenannte „Metacholesterin“ zu betrachten. In 2%iger Mischung des letzteren mit Vaseline beträgt die maximale Wasseraufnahmefähigkeit der Mischung über 500% Wasser.

Ausgeschlossen ist es freilich nicht, daß in Gegenwart von „Metacholesterin“ auch jene Körper eine höhere Hydrophilie erlangen, als sie an und für sich besitzen. (Siehe Vaseline.)

4. Die früher schon von mir vertretene Anschauung, die ja auf experimentellen Feststellungen beruht, daß nämlich die Intensität der Essigschwefelsäurereaktion, d. h. der Oxycholesteringehalt eines Wollfettes als Maßstab für die Höhe seiner Wasseraufnahmefähigkeit dienen könne, hat auch jetzt — wenn auch als indirektes Merkmal — ihre Gültigkeit, obschon das Oxycholesterin für sich gar keine Hydrophilie besitzt. Denn das dieser Eigenschaft zugrunde liegende Metacholesterin ist im Wollfett fraglos aus eigentlichem Cholesterin durch einen Oxydationsvorgang entstanden, bei dem ja auch stets Oxycholesterin entsteht. Die vielfach im genannten Sinne gemachte Erfahrung der Proportionalität der Oxycholesterinreaktion mit der Hydrophilie des Wollfettes läßt sich alsdann nur so erklären, daß, je intensiver diese Farbreaktion ist, desto mehr Chance vorliegt für einen höheren Gehalt des betreffenden Fettes am hydrophilen Metacholesterin, d. h. die Reaktion ist nur ein Gradmesser der größeren oder geringeren Höhe des Oxydationsprozesses, bei dem ja der hydrophile Körper aus dem Cholesterin in größerer oder kleinerer Menge hervorzugehen pflegt.

5. Da demnach die Essigschwefelsäurereaktion für die Wertbestimmung des Wollfettes (oder des Blutfettes) oder deren alkoholischen Teile für gewisse Zwecke von Bedeutung ist, so möge die Art und Weise ihrer sicheren Ausführung hier ihren Platz finden:

30—40 mg des zu untersuchenden Fettes werden in ca. 1 ccm Chloroform gelöst, mit dem doppelten Volumen Eisessig verdünnt und mit 8—10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure vermischt. Scheidet sich dabei etwas Fett aus, so wird noch etwas Chloroform zugesetzt, bis es wieder gelöst ist. Die Lösung färbt sich bald gelb- bis blutrot und zeigt im Spektrum ein mehr oder minder stark dunkles Band im Gelb, das häufig von einer schwachen Linie im Rot begleitet ist. Setzt man dann einen Tropfen Eisenchloridlösung (in Eisessig) hinzu, so schlägt die Farbe in ein echtes Grün um, das Spektralband im Gelb verschwindet und macht einem tief dunklen und starken Streifen im Rot Platz. Die Höhe der Farb- und Spektralintensitäten dieser Reaktion gibt dann ein gutes Merkmal für die Höhe der Wasseraufnahmefähigkeit des betreffenden Fettpräparates ab¹⁾. Ist das Reaktionsgemisch nicht ganz klar, so läßt es sich durch Zusatz von noch 2—3 Tropfen H_2SO_4 in zwei Schichten trennen; die obere Schicht enthält dann das farbige Reaktionsgemisch, das die klaren und gut gezeichneten Absorptionsspektren in Erscheinung treten läßt.

Sämtliche Reagenzien sowie das zu untersuchende Objekt müssen wasserfrei sein. Die Reaktion ist dann farbenecht, empfindlich und zuverlässig. Ist der zu untersuchende Körper wasserhaltig, so wird er auf dem Wasserbade unter Befeuchtung mit Alkohol getrocknet und dann erst für die Anstellung der Reaktion verwendet.

Hamburg, im August 1919.

¹⁾ Die quantitative Messung der Reaktionsintensitäten siehe „Berichte“ Bd. 47, S. 1543 ff. (1914) und a. a. O.