

schen Masse erstarrte. Diese wurde aus Chloroform und trockenem Ligroin umkrystallisirt und zeigte dann den Schmp. 58.5°. Der Körper erwies sich als β -Furpropionsäure¹⁾.

I. 0.0802 g Sbst. verbrauchten beim Titiren 5.8 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Kalilauge. Ber. 5.73 ccm.

II. 0.3358 g Sbst.: 0.7403 g CO₂, 0.1751 g H₂O.

C₇H₈O₃. Ber. C 60.0, H 5.71.

Gef. » 60.12, » 5.79.

Die Furbernsteinsäure spaltet also beim Destilliren Kohlensäure ab und verhält sich somit anders als die Phenylbernsteinsäure²⁾.

Die vollständige Mittheilung über diese Untersuchungen soll später als Dissertation erscheinen.

Helsingfors, Universitätslaboratorium.

189. L. Darmstaedter und J. Lifschütz:

Beiträge zur Kenntniss der Zusammensetzung des Wollfetts.

[VI. (vorläufige) Mittheilung.]

Die Cholesterine des Wollfetts.

(Eingegangen am 1. April.)

Am Schluss unserer letzten Mittheilung erwähnten wir bereits einige hervorragende Eigenschaften der bei der Trennung mit Methylalkohol erhaltenen Fraction 2 der Alkohole des Weichfetts. Zur ferneren Untersuchung haben wir diese Fraction 2 folgendermaassen behandelt:

Die halbflüssige Substanz wurde im 2–3-fachen Volumen Aether gelöst und während einiger Stunden auf Eis gestellt. Es scheidet sich dabei ein bei 76–77° schmelzender, bei 70–72° erstarrender Körper in kleinen, weissen Nadeln aus, der die charakteristischen Reactionen der Cholesterine nicht zeigt. Wir bezeichnen diesen Körper vorläufig als »Alkohol 2a«.

Das ätherische Filtrat wurde eingedampft, mit Petroläther aufgenommen und stark verdünnt. Es scheiden sich hierbei Flocken aus, die sich zu einer dichten, zähen Masse zusammenballen und nach dem Trocknen eine colophoniumähnliche, spröde Substanz darstellen, die wir mit »Alkohol 2b« bezeichnen.

Nach Verjagen des Petroläthers erhält man die Hauptmenge der Fraction 2 als völlig neutrale, aschefreie, hellgelbe, dickflüssige und

¹⁾ Vergl. Baeyer, diese Berichte 10, 357.

²⁾ Bredt und Kallen, Ann. d. Chem. 293, 349.

honigähnliche Masse, die 50—54 pCt. der Weichfettalkohole ausmacht. Der Kürze wegen sei vorläufig diese Masse mit »Alkohol 2c« bezeichnet.

Trotz aller Bemühungen gelang es uns bis jetzt nicht, diese Masse ohne chemischen Eingriff weiter zu zerlegen.

Der bei gewöhnlicher Temperatur klar durchsichtige Körper 2c ist in Wasser unlöslich, dagegen in allen anderen Lösungsmitteln leicht löslich, ohne selbst bei starker Abkühlung etwas abzuscheiden. Bei niedrigen Temperaturen wird er undurchsichtig und fester, jedoch ohne Neigung zu krystallinischer Structur. Er giebt sämtliche Reactionen des Cholesterins, ohne dass es jedoch gelingt, daraus festes Cholesterin zu isoliren, während dies bei der analogen Fraction 3 der Alkohole des Wollwaxes leicht gelang¹⁾. Das Absorptionsspectrum des sogenannten Isocholesterins tritt bei der Cholestolreaction dieses Körpers nicht auf. Löst man wenige Milligramm des Körpers in Eisessig und setzt zur kalten Lösung 4—5 Tropfen concentrirte Schwefelsäure zu, so färbt sich die Lösung ohne Selbsterwärmung schwach rothgelb, wird beim Stehen intensiv grün und zeigt alsdann ein sehr charakteristisches Absorptionsspectrum in Gestalt eines schmalen, tiefdunklen Streifens im Roth zwischen C und d und eines ebenso schmalen, aber viel schwächeren Streifens auf D. Die Farbe hält sich 10—15 Stunden und geht dann durch Grüngelb in Braungelb über; das Spectrum aber ist selbst nach 24 Stunden noch scharf sichtbar. Weder Cholesterin noch Isocholesterin, noch das natürliche Wollfett geben diese Reaction. Es folgt hieraus, dass der Körper, falls er nicht etwa Cholesterin gelöst enthält, was aus weiter unten zu schildernden Gründen sehr unwahrscheinlich ist, vom Cholesterin verschieden sein muss und erst durch die bekannten Reactionen Cholesterin und so die dieses charakterisirenden Erscheinungen liefert.

Da die Cholesterin-Reactionen durchweg mit wasserentziehenden Mitteln bewirkt werden, so lag die Vermuthung nahe, dass hier ein Wasserderivat des Cholesterins vorliegen müsse. Einige weiter unten anzuführende Versuche bestätigten diese Vermuthung. Auch die vorläufigen Orientirungsanalysen weisen auf einen solchen Körper hin.

Durch fractionirte Fällungen dieses Körpers mit Wasser aus alkoholischer Lösung unter starker Abkühlung wurde derselbe in mehrere Fractionen zerlegt, die aber in ihren Eigenschaften und Reactionen sich nicht von einander unterscheiden.

Cholesterin löst sich in diesem Körper selbst in der Wärme nur sehr langsam und schwer auf. Beim Erkalten scheidet sich dasselbe in durchsichtigen, rhombischen Blättchen wieder aus.

¹⁾ Diese Berichte 29, 2894.

Durch Auflösen des Gemisches in Alkohol und Fällen mit 5—10 pCt. Wasser gelingt es leicht, die ganze Menge des Cholesterins wiederzugewinnen.

Dass man es hier mit einem Körper alkoholischer Natur und nicht etwa mit einem der Verseifung entgangenen Theil des Weichfetts zu thun hat, geht ausser dem oben Gesagten insbesondere auch daraus hervor, dass er sich mit Leichtigkeit schon im offenen Gefässe mit organischen Säuren und Säureanhydriden zu Estern paart.

In Nachstehendem geben wir einige Beobachtungen und Versuche wieder, welche

die innigen wechselseitigen Beziehungen zwischen dem Körper 2c, Isocholesterin und Cholesterin

darlegen.

I. Reactionen des Alkohols 2c, welche zum Isocholesterin und Cholesterin führen.

1. Die Esterificirung des Körpers 2c geht leicht und vollständig von Statten. Schon beim Digeriren desselben mit 2—3 Theilen Benzoësäureanhydrid auf dem Wasserbade nimmt das Gemisch einen fettartigen Charakter an. Bei längerem Verweilen des Gemisches auf dem Wasserbade entweichen reichlich trockne Dämpfe von Benzoësäure, unter Esterificirung der Mischung. Schneller gelangt man zum Ziel durch 2-stündiges Erhitzen im offenen Gefäss auf 120°. Nach längerem Stehen in der Kälte erhält man ein strahlenförmig krystallinisch erstarrendes Gemenge, das aus überschüssigem Benzoësäureanhydrid, der freien Säure und mindestens drei Estern besteht, von denen zwei fest und hochschmelzbar sind, während der dritte ein hellgelbes, nicht krystallisirendes, klar durchsichtiges Fett darstellt. Das Reactionsproduct wurde in warmem Petroläther gelöst und kurze Zeit auf Eis gestellt. Hierbei scheidet sich fast das gesammte Benzoësäureanhydrid, neben einer kleinen Menge brauner unlöslicher Nadeln, aus. Nach dem Filtriren und Verjagen des Petroläthers lässt man den öligen Rückstand erstarren und digerirt denselben mit wenig Eisessig in der Kälte. Ein grosser Theil des fettartigen Gemisches löst sich auf, während ein kleinerer Theil als weisses Krystallpulver ungelöst zurückbleibt. Nach Beseitigung des Lösungsmittels hinterlässt das Filtrat ein Oel, das noch freie Benzoësäure und eine cumarinähnlich riechende Substanz enthält. Das Oel wurde mit Methylalkohol, in welchem es nur wenig löslich ist, in der Wärme wiederholt gewaschen und darauf getrocknet. Es stellt dann ein geschmeidiges, weiches, klar durchsichtiges, nicht krystallisirendes Fett dar.

Das Gemisch der festen Ester ist leicht löslich in Aceton und Aether, dagegen unlöslich in Methylalkohol, sehr schwer und nur wenig löslich in heissem Alkohol und leicht in kochendem Eisessig,

aus dem es sich nach dem Erkalten in mikroskopischen, langen, hexagonalen Tafeln ausscheidet. Bei der Verseifung mit alkoholischem Kali und dem Ausschütteln der mit Wasser verdünnten alkalischen Flüssigkeit mit Aether, lieferte es weisse, glänzende Krusten, die sich durch das spectroscopische Bild ihrer Cholestolreaction als ein Gemenge von Cholesterin und Isocholesterin documentirten. Sie wurden durch Methylalkohol, in welchem Isocholesterin viel schwerer löslich ist, getrennt und beide Körper durch ihre charakteristischen Eigenschaften als solche erkannt.

Die vom Aetherextract getrennte alkalische Lösung wurde nach dem Ansäuern nochmals mit Aether ausgeschüttelt, der nach dem Verdunsten reine Benzoësäure hinterliess.

5 g des Alkohols 2c lieferten 0.8 g = 16 pCt. der festen Cholesterine, von denen ca. $\frac{2}{3}$ Cholesterin und $\frac{1}{3}$ Isocholesterin waren.

Der fettige Ester ist leicht löslich in Eisessig, dagegen schwer löslich in Alkohol und in Methylalkohol, durch welche letzteren er von den oben genannten Beimengungen leicht befreit werden kann. Er gab bei der Verseifung mit alkoholischem Kali Benzoësäure und den ursprünglichen Alkohol 2c, der die Cholestolreaction, sowie die oben beschriebene, charakteristische Essigschwefelsäure-Reaction nebst den Spectralerscheinungen mit der ursprünglichen Intensität zeigte.

Sehr bemerkenswerth ist, dass, wenn man die obige Esterification bei 190—200° (nach früheren Angaben) unter Druck bewirkt, der aus dem fettartigen Ester isolirte Alkohol nicht mehr die charakteristische Reaction mit Essig-Schwefelsäure giebt.

Die Cholesterine mussten hierbei erst durch Wasserentziehung entstanden sein, da es schlechterdings unmöglich erscheint, dass sich aus der ursprünglichen Masse 2c, die nach den obigen Zahlen nicht weniger als 16 pCt. der festen Cholesterine enthalten müsste, nicht einmal ein geringer Theil davon isoliren lässt. Der Alkohol 2c müsste danach ein hydratisirtes Cholesterin sein.

2. Verdünnt man die oben erwähnte, stark grün gewordene Reactionslösung des Körpers 2c in Essigschwefelsäure mit dem gleichen Volum Essigsäureanhydrid, so tritt eine Selbsterwärmung ein und die Lösung zeigt nach etwa einer Stunde, neben dem Cholestolstreifen B im Roth, auch den charakteristischen Streifen D — E des Isocholesterins. Da nun bei der Liebermann'schen Cholestolreaction der Körper 2c den Isocholesterinstreifen nicht zeigt, so musste sich bei dieser combinirten Cholestolreaction neben Cholesterin durch Wasserentziehung auch Isocholesterin gebildet haben.

II. Veränderungen des sogenannten Isocholesterins, welche zu Reactionen des Cholesterins führen.

1. Kocht man reines Isocholesterin mit Eisessig unter Zusatz von einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure oder festen Chlorzinks, bis die Lösung unter Ausscheidung von Oeltröpfchen eine constante violet-rothe Farbe angenommen hat und verdünnt sie nach dem Erkalten vorsichtig mit absolutem Alkohol, so löst sich der grösste Theil des Reactionsproductes mit grüner Farbe auf, während die ungelösten Flocken allmählich auf dem Boden des Gefässes zu einem Oel zusammenfliessen. Die grüne alkoholische Lösung zeigt neben dem unveränderten breiten Absorptionsband D — E des Isocholesterins die 2 schmalen Streifen auf B und zwischen d und D des Cholesterins. Der mit Alkohol ausgewaschene ölige Bodensatz giebt in Essigsäureanhydridlösung auf Zusatz eines Tropfens concentrirter Schwefelsäure die Liebermann'sche Cholestolreaction in prachtvollem Farbenwechsel von roth, violet, blau und grün. Bei einem Parallelversuch mit reinem Cholesterin gaben die Reactionsproducte dieselben Farbenerscheinungen, deren Spectra mit den obigen völlig zusammenfielen.

2. Wie früher erwähnt¹⁾, giebt die Liebermann'sche Cholestolreaction in der Kälte beim Isocholesterin andere Farbenerscheinungen als beim Cholesterin. Erwärmt man jedoch die Lösung des reinen Isocholesterins in viel Essigsäureanhydrid nach Zusatz eines Tropfens concentrirter Schwefelsäure schnell bis nahe zum Sieden, so färbt sie sich, wie beim Cholesterin, sofort intensiv grün und zeigt die beiden für das Cholesterin charakteristischen Absorptionsstreifen B und d — D.

III. Umwandlung des Cholesterins in Alkohol 2c durch Einwirkung von alkoholischem Kali.

Kocht man reines Cholesterin mit normal-alkoholischer Kalilauge 3—4 Stunden auf dem Wasserbade am Rückflusskühler, verdünnt mit etwa dem doppelten Volumen 70-procentigen Alkohols und filtrirt nach dem Erkalten das in grösserer Menge ausgeschiedene Cholesterin ab, so lässt sich aus dem Filtrat mit Aether, neben kleineren Mengen Cholesterin, eine blassgelbe Substanz ausziehen, die die oben angeführte Reaction des Alkohols 2c mit Essigschwefelsäure in charakteristischer Weise zeigt.

In weit grösserer und leicht zu fassender Menge erhielten wir diesen Körper unter folgenden Bedingungen:

1.0 g reines Cholesterin wurde mit 50 ccm einer frisch bereiteten, doppeltnormalen, alkoholischen Kalilauge von möglichst geringem Wassergehalt ca. 8 Stunden am Rückflusskühler gekocht und das Pro-

¹⁾ Diese Berichte 31, 100.

duct wie oben behandelt. Wir erhielten dabei 0.73 g eines bräunlich gefärbten Cholesterins und 0.27 g eines hellgelben, amorphen, zähen und weichen Körpers, welcher alle Eigenschaften, Farbenreactionen und Spectralerscheinungen des Alkohols 2c in stärkstem Maasse zeigte. Es gelingt also auf diesem Wege, 20—25 pCt. des Cholesterins in den Alkohol 2c überzuführen.

Lässt man dagegen 1—1½-fachnormal alkoholisches Kali auf reines Cholesterin 3 Stunden im geschlossenen Rohr bei 112—115° einwirken, so ist die Reaction eine viel intensivere, und man erhält nach obiger Behandlung, neben unverändertem Cholesterin, eine dunkelbraune theerige Masse, welche die Reactionen des Körpers 2c nicht zeigt und auch die Cholestolreaction unklar und missfarbig erscheinen lässt.

Diese Versuche schliessen den Kreislauf der wechselseitigen Beziehungen der drei oben beschriebenen Cholesterine.

Die Mengenverhältnisse der Körper, in die wir bis jetzt die Alkoholmasse des Weichfetts zerlegt haben, sind folgende:

100 Theile der Alkoholmasse geben:	
50—54	» des Alkohols 2c
11	» sogen. Isocholesterin
3—4	» Alkohol 2a
6—7	» 2b
24—30	» Nichtcholesterine, deren Trennung und nähere Untersuchung uns noch beschäftigen.

Chemisches Laboratorium der Lanolinfabrik Benno Jaffé und Darmstaedter, Martinikenfelde bei Berlin.

190. A. Wróblewski: Was ist Osborne'sche Diastase?

(Eingegangen am 21. April.)

In meiner Abhandlung über Diastase¹⁾ habe ich alle diesbezüglichen Arbeiten von Osborne citirt und nur ganz kurz dabei bemerkt²⁾, dass die von ihm erhaltenen Präparate unrein sein mussten. Vor einigen Wochen ist in dieser Zeitschrift ein dadurch hervorgerufener polemischer Aufsatz erschienen³⁾. Dies veranlasst mich zum Ergreifen des Wortes, um im Interesse der Wissenschaft etwas Licht auf die Osborne'schen Arbeiten zu werfen.

Wir werden vor Allem sehen, wie Osborne polemisirt. Er behauptet, dass ich »die stärkeumwandelnde Kraft einer Proteose zu-

¹⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 24, 173.

²⁾ l. c. S. 219.

³⁾ Diese Berichte 31, 254. Ich war durch Berufsbeschäftigungen verhindert, die Antwort früher zu veröffentlichen.