

46. J. Lifschütz:

Eine Farbenreaktion auf Cholesterin durch Oxydation.

(Eingegangen am 17. Januar 1908.)

Die ausgezeichneten Farbenreaktionen, sowie deren charakteristische Absorptionsspektren, welche die ersten (neutralen) Oxydationsstufen des Cholesterins in Eisessiglösung auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure geben¹⁾, lassen sich vorteilhaft als Erkennungsmerkmale für Cholesterin verwerten. Als zweckmäßigste Oxydationsmittel empfehlen sich zu diesem Ende vorzüglich die Superoxyde der organischen Säureradikale. Die einfachste Ausführungsform der Reaktion ist dann folgende: Einige Milligramme Cholesterin werden in 2—3 ccm Eisessig gelöst, einige Körnchen Benzoylsuperoxyd hinzugefügt und das ganze 1—2 Mal aufgekocht. In die abgekühlte Lösung läßt man 4 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure fallen, die sich am Boden des Reagensglases sofort blauviolett oder blaugrün färbt. Das durchgeschüttelte Gemisch färbt sich in kurzer Zeit entweder violettrot, bald darauf schön blau mit violetter Durchsicht im Lampenlicht und erst nach sehr langem Stehen rein grün; oder es nimmt nach dem Durchschütteln des Gemisches sofort eine rein grüne Farbe an: je nachdem eine unzulängliche oder überschüssige Menge von Benzoylsuperoxyd sich an der Reaktion beteiligt hat. Bei unzureichender Menge Peroxyd entsteht vorwiegend die erste Oxydationsstufe des Cholesterins, das sogenannte Oxycholesterinäther, $(C_{26}H_{43}O)_2O$, während eine größere Menge Peroxyd die darauf folgende Oxydationsstufe herbeiführt und so das Oxycholesterin $C_{26}H_{44}O_2$ liefert²⁾. Den obengenannten Reaktionsfarben dieser Oxycholesterine entsprechen auch vollständig die seinerzeit beschriebenen, sehr scharfen und charakteristischen Absorptionsspektren dieser Körper. (Vergl. hierüber: Zeitschr. für physiol. Chem. I u. II: 50, 436 u. 53, 140 ff.)

Die Empfindlichkeit dieser Cholesterinreaktion beträgt in einer Schicht von 12—15 mm 1:10000.

Bleibt diese Empfindlichkeit im Verhältnis zur Empfindlichkeit der Liebermannschen Cholestolreaktion erheblich zurück, so weist

¹⁾ Siehe Zeitschr. für physiol. Chem. 50, 436 und 53, 140—145 u. a. O.

²⁾ Bis auf weitere analytische Belege habe ich für obige Verbindungen die bezeichneten Ausdrücke vorläufig der Kürze wegen angenommen, weil die genannte zweite Oxydationsstufe $C_{26}H_{44}O_2$ bei weiterer Oxydation die Säure $C_{26}H_{40}O_4$ (Chollansäure) liefert und die erste Oxydationsstufe $(C_{26}H_{43}O)_2O$ unmittelbar zwischen dem Cholesterin und dem Oxycholesterin auftritt.

diese neue Reaktion doch nicht zu unterschätzende Vorzüge auf. So ruft z. B. Acetanhydrid infolge seiner hohen Reaktionsfähigkeit und Selbsterwärmung auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure, beim Nachweis von kleinen Mengen Cholesterin neben größeren Beimengungen von unverseifbaren Harzstoffen und Kohlenwasserstoffen Nebenreaktionen hervor, die häufig geeignet sind, nicht bloß die Farbe, sondern auch das sehr charakteristische Spektrum der Cholestolreaktion vollständig zu verdecken. Der in vielen Fällen entscheidend charakteristische Spektralstreifen der Cholestolreaktion liegt bei der Fraunhoferschen Linie B, also sehr nah dem äußersten Rotrande des Spektrums. Diese Stelle wird aber in den genannten Fällen durch die Nebenreaktionen und Fremdfärbungen so verdunkelt, daß der Absorptionsstreifen mit dem dunklen Rand des Ultrarot zusammenfließt und sich so der Beobachtung vollständig entzieht. Dagegen liegt der Absorptionsstreifen der neuen Reaktion (d. h. des Oxycholesterins) zwischen den Linien C und d, also in der Mitte des roten Spektralfeldes, wo er selbst bei den stärksten Verunreinigungen der Substanz und Verdunkelungen des Spektrums stets gut wahrnehmbar ist. Außerdem geht die neue Cholesterinreaktion bei gewöhnlicher Temperatur ohne jede Selbsterwärmung vor sich und läuft deshalb auch weniger Gefahr, Nebenreaktionen und Fremdfärbungen hervorzurufen.

Angesichts der neuerdings ermittelten großen Verbreitung der Oxycholesterine in den inneren tierischen Organen¹⁾, dürfte wohl die obige Reaktion auch einiges Interesse der Physiologen beanspruchen. Man ist dabei stets in der Lage, behufs Vergleichung und Identifizierung von fraglichen Stoffen sich aus reinem Cholesterin in kürzester Zeit haltbare Lösungen von Oxycholesterin in Eisessig mit genau bekanntem Substanzgehalt herzustellen, um sich somit (nach Hervorrufung der Farbenreaktion mit konzentrierter Schwefelsäure) kalorimetrisch oder spektrometrisch gleichzeitig auch einen quantitativen Überblick über die zu vergleichende Substanz zu verschaffen.

In präparativer Hinsicht bedeutet die Oxydation des Cholesterins mittels Benzoylsuperoxyds für die Herstellung der Oxycholesterine einen wesentlichen Fortschritt gegenüber dem früher gebrauchten Permanganatverfahren²⁾. Man braucht bloß die Eisessiglösung des reinen Cholesterins nach kurzem Aufkochen mit Benzoylsuperoxyd einzu-

¹⁾ Außer den von mir bereits mitgeteilten diesbezüglichen Befunden im Knochenmark und Blut (Zeitschr. für physiol. Chem. 53, 140 ff.) habe ich im weiteren Verlauf dieser Untersuchungen auch im Gehirn und im Pankreasfett die Oxycholesterine aufgefunden.

²⁾ Siehe Ztschr. für physiol. Chem. 50, 436 ff.

dampfen und mit absolutem Alkohol auf dem Wasserbad die Essigsäure und den größten Teil der Benzoessäure zu verjagen, um die Oxycholesterine (als Benzoate) in schönen, goldgelben, glänzenden, bernsteinartigen Lamellen zu erhalten. Die mit Essigschwefelsäure zunächst rot- oder blauviolett und dann blau reagierende Verbindung ist in Benzin (spez. Gewicht 0.720) leicht löslich; dagegen ist die in Eisessig auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure sofort grün reagierende Oxycholesterinverbindung darin — namentlich nach größerer Verdünnung — sehr schwer löslich. Die beiden Substanzen können dadurch leicht von einander getrennt werden.

Die von mir seinerzeit

»kombinierte Cholestolreaktion«¹⁾

stellt sich hier als sicheres Mittel dar, um die vollständige Abwesenheit von unangegriffenem Cholesterin überzeugend nachzuweisen. Löst man nämlich einige Körnchen des, wie oben angegeben, isolierten, festen Oxycholesterins in Eisessig und setzt in der Kälte einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure hinzu, so erhält man die oben geschilderte Farbenreaktion. Verdünnt man nun die Lösung nach etwa $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen mit dem gleichen Volumen Essigsäureanhydrid, so merkt man wohl, falls das Oxycholesterin auch Oxycholesterinäther (erste Oxydationsstufe des Cholesterins) enthält und die Lösung noch schön blau gewesen ist, einen Farbumschlag²⁾, der aber nicht das Eintreten der Liebermannschen Cholestolreaktion, sondern die Beschleunigung der Essigschwefelsäurereaktion der Oxycholesterine und das Eintreten des letzten (grünen) Stadiums derselben anzeigt. Mit dem Verschwinden der blauen Farbe verschwindet zwar auch das breite und tief dunkle Band (Oxycholesterinäther) aus dem Gelb des Spektrums; allein der Streifen zwischen den Linien C und d bleibt unwandelbar bestehen, ändert auch bis zum Verschwinden der Farben- und Spektralerscheinung seine Lage nicht und fällt mit den entsprechenden Streifen der reinen Essigschwefelsäurereaktion dieser Substanz vollständig zusammen. Ist aber bei der Anstellung der obigen Essigschwefelsäurereaktion neben den Oxycholesterinen eine auch nur geringe Menge von Cholesterin zugegen gewesen, so verschwinden nach dem Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Acetanhydrid die Farbe und das Absorptionsspektrum des Oxycholesterins in kurzer Zeit vollständig unter gleichzeitiger Entwicklung der Farbe

¹⁾ Diese Berichte 31, 1125 [1898].

²⁾ Die Lösung wird unter Selbsterwärmung sofort rein grün.

und des total verschiedenen, aber nicht minder charakteristischen Absorptionsspektrums der Liebermannschen Cholestolreaktion¹⁾.

Noch auffallender tritt der obige Unterschied in Erscheinung, wenn man die Verdünnung mit Essigsäureanhydrid vornimmt, nachdem das Reaktionsgemisch der Essigschwefelsäurereaktion in Farbe und Spektrum vollständig »ausreagiert« und die Lösung braungelb geworden war. Bei Abwesenheit von Cholesterin tritt in der Lösung weder in Farbe noch im Spektrum irgend welche Veränderung ein. Dagegen erhält man bei Anwesenheit von Cholesterin die bekannte Liebermannsche Cholestolreaktion mit allen ihren Farben- und Spektralerscheinungen in charakteristischster Weise.

Bremen, im Januar 1908.

47. C. Harries und Paul Hohenemser: Über den monomolekularen Succindialdehyd.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Kiel.]

(Eingegangen am 15. Januar 1908.)

Die verschiedenen Modifikationen des Succindialdehyds sind bereits vor einigen Jahren²⁾ beschrieben worden. Es wurde damals gezeigt, daß dieser Dialdehyd bei der Darstellung zunächst immer in einer glasigen Form erhalten wird, die beim mehrfachen Destillieren im Vakuum in eine dünnflüssige Form übergeht. Molekulargewichtsbestimmungen ergaben, daß die glasige Form in der Kälte mindestens die fünffache Molekulargröße besitzt, daß diese aber bei steigender Temperatur allmählich abnimmt, um beim Siedepunkt von 169° unter Atmosphärendruck die einfache Molekulargröße anzunehmen. Messungen an der dünnflüssigen Form ergaben nach mehrstündigem Stehen eine dreifache Molekulargröße bei der kryoskopischen Methode.

Nun hat vor kurzem der eine von uns in Gemeinschaft mit P. Temme³⁾ gezeigt, daß man das monomolekulare Glyoxal durch Destillation des polymeren Glyoxals mit Phosphorpentoxyd erhalten kann. Dieser Erfolg regte dazu an, dieselben Versuche auf den glasigen Succindialdehyd⁴⁾ anzuwenden, um aus demselben vielleicht leichter

¹⁾ Vergl. diese Berichte **31**, 100 [1898] und Monatsh. für prakt. Dermat. **45**, 399.

²⁾ C. Harries, diese Berichte **35**, 1184 [1902].

³⁾ Diese Berichte **40**, 165 [1907].

⁴⁾ Der Succindialdehyd wurde nach dem bekannten Verfahren aus Pyrrol über das Dialdoxim mit salpetriger Säure gewonnen. Hierbei ist zu bemer-