

Mitteilung aus dem Institut für Lebensmittel- und Gärungschemie der
Sächsischen Technischen Hochschule Dresden

Beitrag zur Kenntnis des Wollfettes

Von **A. Heiduschka** und **E. Nier**

(Eingegangen am 21. Mai 1937)

Wollfett wurde mit alkoholischem Kali verseift und das Verseifbare vom Unverseifbaren durch Ausschütteln mit Äther getrennt. In der Ausführung gestaltete sich diese Operation bei größeren Mengen sehr schwierig. Es gelang aber schließlich, die Fettsäuren frei vom Unverseifbaren und das Unverseifbare frei von Fettsäuren zu erhalten. Aus dem Fettsäuregemisch wurde durch fraktioniertes Fällen die Cerotinsäure erhalten und durch Überführung in den Äthylester und in das Lithiumsalz gereinigt. Die gereinigte Cerotinsäure zeigte einen Schmelzpunkt von 78° , der mit demjenigen der Cerotinsäure des Bienenwachses übereinstimmte. Mit der so gereinigten Cerotinsäure wurden verschiedene Verbindungen hergestellt, von denen Cerotinsäurepropylester, Cerotinsäureisopropylester, Cerotinsäureisobutylester, Cerotinsäureamylester erstmalig dargestellt wurden, es wurden noch hergestellt: Cerotinsäuremethylester, Cerotinsäureäthylester, Cerotinsäurephenolester, Cerotinsäureanhydrid, Cerotinsäureamid, Cerotinsäurecholesterinester. Sie sind schon beschrieben worden. Die Konstanten dieser Verbindungen stimmen, soweit sie schon dargestellt worden sind, mit den in der Literatur angegebenen Werten überein, bis auf geringfügige Abweichungen in den Schmelzpunkten, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

Die Lanocerinsäure ist in Äther unlöslich, und wurde beim Lösen des Fettsäuregemisches in Äther als graue unlösliche Substanz erhalten. Sie wurde für die ausgeführten Versuche jedoch auf eine einfachere Art direkt aus dem Wollfett ge-

Substanz	Literaturangabe		Gefunden	
	Schmp.	V.-Z.	Schmp.	V.-Z.
Cerotinsäure	77,8°	136,5	78°	135,8
Cerotinmethylester	62°	132,1	61,5°	131,4
Cerotinäthylester	60°	127,9	60°	126,7
Cerotinpropylester	—	124	65,5°	124,5
Cerotinisopropylester	—	124	75°	123
Cerotinisobutylester	—	120,2	65,5°	119,5
Cerotinamylester	—	116,7	62—63°	117
Cerotinphenolester	59°	—	59°	—
Cerotinanhydrid	79°	—	79°	—
Cerotinsäureamid	106°	—	106,5°	—
Cerotincholesterinester	63°	—	64,5°	—

wonnen. Nach ihrer Reinigung durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Tetrachlorkohlenstoff wurden hergestellt: Der Lanocerinsäuremethylester, der Lanocerinsäurebenzylester. Erstmalig dargestellt wurde der Lanocerinsäureäthylester und die Silberbestimmung im lanocerinsauren Silber ausgeführt. Die Silberbestimmung ergab, daß auf die Formel $C_{30}H_{60}O_4$ berechnet, nur ein Wasserstoffatom durch Silber ersetzt worden war. Die Schmelzpunkte der drei oben genannten Verbindungen der Lanocerinsäure sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Substanz	Literaturangabe	Gefunden
Lanocerinsäuremethylester	79—80°	78,6°
Lanocerinsäureäthylester	—	78°
Lanocerinsäurebenzylester	80°	79°

Darmstädter und Lifschütz¹⁾ geben an, daß sie beim Ansäuern der verseiften Lanocerinsäure außer der Säure in nicht unerheblicher Menge das Lacton der Lanocerinsäure erhalten hätten, das in Äther leicht löslich sein soll. Es gelang uns nicht, dieses Lacton zu erhalten, sondern es wurde stets eine Substanz erhalten, die bei 102,5° schmolz und in Äther unlöslich war. Beim Kochen der Substanz mit verdünnten Säuren wurde ein Umwandlungsprodukt erhalten, das bei 86° schmolz. Auch Grassow hat die in Äther lösliche Substanz nicht feststellen können²⁾.

¹⁾ Ber. 29, 618 (1896).

²⁾ Biochem. Ztschr. 143, 61 (1923).

Durch die verschiedenen Krystallisationen und Fällungen aus Äthylalkohol, Methylalkohol und deren Gemischen wurde das Unverseifbare zerlegt und im ganzen 5 Fraktionen erhalten, von denen die 2. Fraktion nochmals in zwei Untergruppen zerlegt wurde.

Die 1. Fraktion enthielt Cerylalkohol, welcher zu Cerotinsäure oxydiert wurde. Fraktion 2, Gruppe a enthielt „Isocholesterin“, das in seinen Eigenschaften dem von Schulze¹⁾ und Darmstädter und Lifschütz²⁾ beschriebenen Stoffe gleich. Gruppe b ergab eine Substanz, die sehr viel Wasser zurückhielt, eine große Schmelzpunktsdifferenz zeigte und beim Oxydieren einen neutralen Stoff ergab. Fraktion 3 war eine braune, schmierige, zähe Masse, welche nicht krystallinisch erhalten werden konnte, und die auch bei der Behandlung mit Oxydationsmitteln keinen einheitlichen Stoff ergab. Fraktion 4 bestand aus fast reinem Cholesterin, das an seinem Schmelzpunkt und an seiner Krystallform leicht zu erkennen war. Fraktion 5 bildete eine harzähnliche, klebrige Masse, welche bei der Oxydation sich in eine kautschukartige, hellgelbe, nicht charakterisierbare Substanz umwandelte. Es sind also in dem Unverseifbaren des Wollfettes nachgewiesen worden: Cerylalkohol, Isocholesterin, Cholesterin. Den von Darmstädter und Lifschütz³⁾ gefundenen „Carnaubylalkohol“ nachzuweisen, gelang uns nicht. Möglicherweise war er in der Fraktion 2, Gruppe b enthalten, die ein ähnliches Verhalten zeigte, wie der von jenen Forschern gefundene Carnaubylalkohol, doch gelang es nicht, ihn daraus zu gewinnen. Außerdem sind in dem Unverseifbaren mindestens noch zwei Substanzen enthalten (Fraktion 3 und 5), über deren Natur und Zusammensetzung nichts Genaueres zu ermitteln war, da sie weder krystallinisch noch amorph zu erhalten waren, sondern teils schmierige, teils klebrige, harzähnliche Massen bildeten. Auch die Oxydation der Fraktionen 3 und 5 führte zu keinem befriedigenden Resultat, da im ersten Falle eine hellbraune, körnige Substanz, die keinen bestimmten Schmelzpunkt zeigte, und im zweiten Falle eine kautschukartige Masse erhalten wurde, die sich ähnlich verhielt.

¹⁾ Dies. Journ. [2] 7, 163 (1873).

²⁾ Ber. 28, 3133 (1895). ³⁾ Ber. 29, 890 (1896).

Experimenteller Teil

Trennung des Verseifbaren vom Unverseifbaren

Die Seifenlösung wurde durch Extraktion mit Äther vom Unverseifbaren befreit und die gesamte Menge der Kalisalze der Fettsäuren mit Salzsäure zersetzt. Die Fettsäuren schieden sich als krümelige Masse ab. Sie wurden mit Äther behandelt, wobei sie bis auf eine geringe Menge einer grauen Substanz in Lösung gingen, die in Flocken in der ätherischen Lösung herumschwamm. Diese Masse wurde auf einer Nutsche gesammelt, mit Äther und dann mit Wasser gewaschen, auf einer Tonplatte im Vakuumexsiccator getrocknet und für spätere Versuche beiseite gestellt. Die ätherische Lösung der Fettsäuren wurde mehrere Male mit destilliertem Wasser gewaschen, im Vakuum eingedampft und getrocknet. Die Fettsäuren stellten eine dunkelbraune, salbenartige Masse dar, die bei 41° schmolz. Die Mengenverhältnisse des Unverseifbaren, der Fettsäuren und der im Äther nicht löslichen Substanz ergaben bei den Versuchen im Mittel: Unverseifbares $32,8\%$; Fettsäuren $62,7\%$; Unlösliches $1,1\%$.

Fraktioniertes Fällen des Fettsäuregemisches: 30 g Fettsäuren wurden mit $\frac{1}{2}$ Liter ungefähr 40° warmen Petroläthers extrahiert, wobei der größere Teil der Fettsäuren in Lösung ging. Ungelöst blieb ein gelbes Pulver und eine dunkelbraune schmierige Masse. Der Petroläther enthielt ein hellgelbes, fettiges Säuregemisch von 21 g = 70% . Diese 21 g wurden in 120 ccm Alkohol durch Erwärmen gelöst und zur Erleichterung der Krystallisation etwa 100 ccm Wasser zugesetzt. Beim Abkühlen krystallisierten 4,98 g einer weißen wachsartigen Masse aus = $23,3\%$. Das Krystallgemisch wurde nochmals mit Petroläther ausgekocht und filtriert. Auf dem Filter blieb wiederum ein braunes schmieriges Öl zurück. Bei zu langer Behandlung der Säuren mit Alkohol bilden sich im Petroläther schwer lösliche Ester, die ebenfalls auf dem Filter zurückblieben. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft. Das Säuregemisch zeigte einen Schmelzpunkt von $73,5^{\circ}$, nachdem bereits Sinterung bei 70° eingetreten war. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz in den Äthylester übergeführt.

3,6 g Säureester wurden mit 40 ccm n/2-alkoholischer Kalilauge 1 Stunde lang auf dem Wasserbade verseift. Nach dem Abkühlen schied sich die Kaliseife als farblose gelatinöse Masse aus. Sie wurde in warmem Äthylalkohol gelöst und die Lösung in kalte verdünnte Schwefelsäure gegossen. Die Säure schied sich sofort als weiße fettartige Masse, die obenauf schwamm, ab. Die wiederholt über Wasser geschmolzene und beim Abkühlen wieder erstarrte Säure wurde abgesaugt, getrocknet und aus Aceton umkrystallisiert. Die Ausbeute betrug 3,39 g. Die Säure war löslich in Methylalkohol, Äthylalkohol, Äther, Aceton, Benzin, Benzol, Chloroform, Essigester, Schwefelkohlenstoff. Aus heißem Aceton krystallisierte sie beim Abkühlen fast quantitativ in sehr schönen, warzenförmig angeordneten Nadeln, aus Essigester in glänzenden Tafeln. Nach dem Umkrystallisieren aus Aceton stellte sie ein trocknes weißes Pulver dar. Der Schmelzpunkt lag nach fünfmaliger Umkrystallisation aus Aceton bei $76,5^{\circ}$. Aus Schmelzpunkt und den Resultaten einer Analyse konnte man auf eine noch nicht vollständig reine Cerotinsäure schließen. Aus 100 g Wollfett ließen sich 7,34 g gewinnen. Nach H. Meyer¹⁾ wurde das Lithiumsalz hergestellt. Dieses wurde mit viel Äther und entsprechenden Mengen Salzsäure längere Zeit geschüttelt und die sich ausscheidende krümelige Säure in Äther gelöst, die ätherische Lösung nach wiederholtem Waschen mit Wasser verdampft und die Säure aus Aceton umkrystallisiert. Diese Manipulation wurde noch zweimal wiederholt und so gelang es, eine Cerotinsäure vom Schmp. 78° zu erhalten.

1,2784 g Fettsäure = 30,80 ccm n/10-KOH. — 1,4203 g Fettsäure = 34,20 ccm.

$C_{27}H_{54}O_2$ Säurezahl Ber. 136,5 Gef. 135,8

0,1327 g Fettsäure = 0,3841 g CO_2 , 0,1568 g H_2O .

$C_{27}H_{54}O_2$ Ber. C 78,95 H 13,26 Gef. C 78,96 H 13,22

Zur weiteren Identifizierung dieser Cerotinsäure wurden die schon bekannten Derivate Cerotinsäuremethylester, Cerotinsäureäthylester, Cerotinsäurephenolester, Cerotinsäureanhydrid, Cerotinsäureamid, Cerotinsäurecholesterinester und außerdem noch folgende Verbindungen hergestellt:

¹⁾ Monatsh. Chem. **34**, 1113 (1920).

Cerotinsäure-n-Propylester

Cerotinsäure wurde mittels Thionylchlorid in das Chlorid übergeführt und dieses dann durch Erwärmen und Schütteln mit Pyridin und n-Propylalkohol in den Ester verwandelt. Die sich ausscheidende Substanz wurde durch Lösen in Äther und Aceton gereinigt. Ihr Schmelzpunkt lag bei 65,5°.

0,1928 g Subst.: 0,5619 g CO₂, 0,2295 g H₂O.

C₃₀H₆₀O₂ Ber. C 79,57 H 13,36 Gef. C 79,51 H 13,32

C₃₀H₆₀O₂ Verseifungszahl Ber. 124 Gef. 124,5

Cerotinsäureisopropylester

1 g trockne Cerotinsäure wurde mit 10 ccm Isopropylalkohol und einigen Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt. Das Gemisch wurde 6 Stunden unter Rückflußkühlung im Sieden erhalten, dann wurden 15 ccm Benzol zugesetzt, mit alkoholischer KOH neutralisiert und hierauf das Benzol und der Alkoholüberschuß im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde mit Äther aufgenommen und die Lösung mehrere Male mit Wasser gewaschen, bis sich im Waschwasser SO₄ nicht mehr nachweisen ließ. Der Äther wurde im Vakuum bei niedriger Temperatur verdampft und der Ester aus Aceton umkrystallisiert. Schmp. 75°.

0,1456 g Subst.: 0,4248 g CO₂, 0,1734 g H₂O.

C₃₀H₆₀O₂ Ber. C 79,57 H 13,36 Gef. C 79,60 H 13,33

C₃₀H₆₀O₂ Verseifungszahl Ber. 124 Gef. 123

Cerotinsäureisobutylester

1 g Cerotinsäure wurde mit Thionylchlorid in das Säurechlorid übergeführt, mit 0,5 ccm Pyridin und 10 ccm Isobutylalkohol versetzt und 2 Tage unter Ausschluß jeglicher Feuchtigkeit sich selbst überlassen. Darauf wurde das Gemisch 2 Std. auf dem Wasserbade unter Rückfluß erhitzt. Beim Abkühlen auf Zimmertemperatur schied sich ein weißer Körper ab. Nach der üblichen Reinigung des Esters wurde er noch aus Aceton umkrystallisiert. Schmp. 65,5°.

0,1711 g Subst.: 0,4970 g CO₂, 0,2032 g H₂O.

C₃₁H₆₂O₂ Ber. C 79,75 H 13,59 Gef. C 79,71 H 13,37

C₃₁H₆₂O₂ Verseifungszahl Ber. 120,2 Gef. 119,5

Cerotinsäureamylester

Die Darstellungsweise war dieselbe wie die des Cerotinsäureisobutylesters, nur daß an Stelle des Isobutylalkohols Amylalkohol verwendet wurde. Auch dieser Ester war in der Wärme in Aceton leicht löslich und konnte auf diese Weise gereinigt werden. Der Schmelzpunkt lag bei 63°.

0,1492 g Subst.: 0,4370 g CO₂, 0,1789 g H₂O.

C₃₂H₆₄O₂ Ber. C 79,92 H 13,42 Gef. C 79,90 H 13,42

C₃₂H₆₄O₂ Verseifungszahl Ber. 116,7 Gef. 117

Lanocerinsäure

Nachdem die Fettsäuren vom Unverseifbaren getrennt worden waren, blieb bei ihrer Lösung in Äther eine graue Substanz zurück, die nach Reinigung durch Umkrystallisation aus CCl₄ ein grau-weißes Pulver bildete vom Schmp. 102,5°.

Über das in Wasser lösliche Kaliumsalz wurde das Silbersalz dargestellt.

0,9314, 0,8637 g Subst.: 0,1614, 0,1367 g Ag.

C₃₀H₅₉O₄ Ber. Ag 18,24 Gef. Ag 17,33, 16,99

Ausgehend vom Silbersalz wurde der Lanocerinsäureäthylester dargestellt. 1 g lanocerinsaures Silber wurde mit 0,5 g Äthyljodid und Tetrachlorkohlenstoff 3 Stunden erhitzt, noch heiß vom Silberjodid abgesaugt und nach Entfernen des überschüssigen Äthyljodids durch Umkrystallisieren gereinigt. Schmp. 78°.

0,1379 g Subst.: 0,3802 g CO₂, 0,1517 g H₂O.

C₃₂H₆₄O₄ Ber. C 74,95 H 12,59 Gef. C 75,32 H 12,31

Reinigung des Unverseifbaren

Das gewonnene Unverseifbare war noch mehr oder weniger durch Seifenreste verunreinigt und mußte deshalb durch nochmalige Verseifung, Trocknung und Extraktion gereinigt werden. Besonderer Wert wurde hierbei auf ein vollständig trocknes Extraktionsgut gelegt, weshalb bei einer weiteren Verseifung zum Schluß die Masse von der Extraktion noch mit wasserfreiem Natriumsulfat verrieben wurde. Nach dieser Behandlung wies das Unverseifbare beim Veraschen keinen wägbaren Rückstand mehr auf.

Zerlegung des Unverseifbaren in Fraktionen

Die gereinigte Masse des Unverseifbaren (71 g) wurde unter Erwärmen in absolutem Alkohol gelöst. Beim Abkühlen schied sich eine Substanz von hellbrauner Farbe aus (1,6 g, Fraktion 1). Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol zeigte diese einen Schmelzpunkt von $75,5^{\circ}$, der dem des Cerylalkohols sehr nahe steht. Durch Oxydation wurde eine Substanz erhalten, deren Schmelzpunkt, Säurezahl und Analyse auf Cerotinsäure hindeuteten. Schmp. $77,5^{\circ}$.

$C_{26}H_{52}O_2$, Säurezahl Ber. 136,5 Gef. 133,0

0,1277 g Subst.: 0,3698 g CO_2 , 0,1509 g H_2O .

$C_{26}H_{52}O_2$ Ber. C 78,78 H 13,13 Gef. C 79,01 H 13,22

Das alkoholische Filtrat von Fraktion 1 wurde zur Trockne verdampft und auf dem Wasserbade mit Methylalkohol versetzt, wobei die Masse unter teilweiser Auflösung in ein weißliches Pulver zerfiel. Nach dem Filtrieren blieben auf dem Filter 30,6 g (Fraktion 2). Nach nochmaligem Auskochen mit Methylalkohol wurde der Rückstand in Äthylalkohol gelöst und mit 200 ccm Methylalkohol und 30 ccm Wasser versetzt. Es schied sich eine weiße Substanz ab = 22,4 g (Teil a). Das Filtrat wurde zum Sieden erhitzt, vorsichtig mit Wasser versetzt, bis eine leichte Trübung entstand, welche durch Zusatz von etwas absolutem Alkohol wieder zum Verschwinden gebracht wurde. Beim Abkühlen entstand ein ziemlich voluminöser Niederschlag von gelblich-weißer Farbe, der filtriert und getrocknet wurde (5,8 g, Teil b).

Teil a zeigte an der Luft getrocknet einen Schmp. 120° . Bei der Schmelzpunktsbestimmung zeigte es sich, daß die Substanz Wasser abgab. Aus trockenem Äther umkrystallisiert, resultierte ein Schmelzpunkt von 137° .

0,1914 g Subst.: 0,5876 g CO_2 , 0,2034 g H_2O .

$C_{27}H_{46}O$ Ber. C 84,94 H 11,92 Gef. C 80,76 H 11,89

Die Substanz scheint also das von Darmstädter und Lifschütz isolierte Isocholesterin zu sein. Es löst sich in Äthylalkohol und ist fast unlöslich in kaltem Methylalkohol. Bei 85° getrocknet, verliert es $2,7\%$ seines Gewichtes an Wasser, wobei sich der Schmelzpunkt auf 137° erhöht. Die

Substanz gibt die Isocholesterinreaktion, aber nicht mehr die Cholesterinreaktion.

Teil b zeigte nach Lufttrocknung einen Schmelzpunkt von 62—64°. Es gelang nicht, die Substanz krystallinisch zu erhalten. Auf dem Wasserbade längere Zeit erhitzt, stieg der Schmelzpunkt auf 86° an. Beim Oxydieren mit Chromsäure wurde ein neutrales, hellgraues Produkt erhalten, das beim Trocknen hart und spröde wurde.

Das Filtrat von Fraktion 2 war nicht einheitlich, sondern am Boden der klaren Lösung befand sich eine ölige Substanz, von welcher das klare Filtrat dekantiert wurde. Nach mehrmaligem Auswaschen mit Methylalkohol blieb es als dickflüssige Masse zurück (8,1 g, Fraktion 3). Es gelang nicht, die Substanz krystallinisch zu erhalten; sie verwandelte sich schließlich in eine klebrige, schmierige, braune Masse. Nach der Oxydation wurde die Masse körnig und hellbraun. Beim Erhitzen wurde sie teigig und verkohlte.

Die bei Gewinnung der Fraktion 3 verbleibende Lösung ergab nach dem Verdampfen des Methylalkohols 28 g einer Substanz, die in heißem Äthylalkohol gelöst und vorsichtig mit Wasser versetzt wurde. Beim Erkalten schieden sich große blättrige Krystalle aus. Gewicht 19,6 g (Fraktion 4). Nach mehrmaligem Fällen aus erhitztem Alkohol-Wassergemisch betrug der Schmp. 144—145°, so daß anzunehmen ist, daß es sich um fast reines Cholesterin handelt. Die Substanz ergab die Liebermannsche Reaktion auf Cholesterin.

Das Filtrat von Fraktion 4 wurde eingedampft und ergab eine klebrige, dunkelbraune, harzähnliche, plastische Masse von 7,3 g (Fraktion 5). Durch starke Salpetersäure oxydiert, wurde sie hellgelb und bildete eine kautschukartige Substanz. Außerdem schwamm in der Lösung eine geringe Menge weißer Flocken, die aber zu einer Analyse nicht ausreichte.