

**25. Hans Paul Kaufmann: Zur Biologie der Fette, I. Mitteilung: Konjugiert-ungesättigte Fettsäuren in Naturfetten\*).**

[Aus dem Institut für Pharmazie und chemische Technologie der Universität Münster in Westfalen.]

(Eingegangen am 25. August 1947.)

Mit Hilfe der spektrophotometrischen Analyse konnte der Beweis erbracht werden, daß die Glyceride zahlreicher Naturfette konjugiert-ungesättigte Fettsäuren enthalten. In den Samenfetten von Pflanzen, die einen hohen Wasserbedarf haben, wurden größere Mengen 2-, 3- und 4-fach konjugiert-ungesättigter Fettsäuren nachgewiesen, so z.B. in verschiedenen *Irisarten* und in *Nymphaea alba*. Der Gehalt tierischer Fette an diesen Säuren ist meist gering. Ihr Nachweis sowie ihre Vergesellschaftung mit Essigsäure in den Balsaminaceen-Fetten gestattet Rückschlüsse auf die Beziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel.

Die Umwandlung von Kohlenhydraten in Fette verläuft über die Phosphatide, wie Versuche mit *Lycastis ranauensis* zeigten.

Konjugiert-ungesättigte Fettsäuren sind bisher in natürlichen Fetten nur in wenigen Fällen nachgewiesen worden, so besonders die Eläostearinsäure im Holzöl und die Licansäure (Couepinsäure) im Oiticicäöl. Die im Öl der Früchte von *Parinarium laurinum* beobachtete Parinarsäure kommt in erheblichen Mengen in den Samen der Balsaminaceen vor<sup>1)</sup>.

Mit Frl. Dr. Erika Meyer habe ich nun den Nachweis erbringen können, daß zahlreiche andere Naturfette konjugiert-ungesättigte Fettsäuren enthalten. Vorbehaltlich weiterer Untersuchungen — eine umfassende Prüfung ist in Aussicht genommen — komme ich zu dem Schluß, daß sie ein ständiger Bestandteil aller Fette sind. Daß sie bisher in den meisten Fällen der Beobachtung entgingen, hat seinen Grund in der geringen Empfindlichkeit der früher zur Verfügung stehenden qualitativen und quantitativen Nachweise<sup>2)</sup>. Erst die Absorptionsspektrographie der Fette bzw. Fettsäuren erlaubt ihre leichte und scharfe Erkennung<sup>3)</sup>.

Bei den meisten Fetten ist die Menge der vorhandenen konjugiert-ungesättigten Fettsäuren gering. Daher muß die Isolierung der Fette und die Herstellung der Fettsäuren daraus unter besonderen Vorsichtsmaßnahmen geschehen. Zunächst ist zu berücksichtigen, daß die Begleitstoffe der natürlichen Fette störende Absorptionserscheinungen verursachen können; das Unverseifbare ist also sorgfältig zu entfernen. Weiterhin entstehen bei ungesättigten Fettsäuren durch Oxydation und darauffolgende Dehydratation konjugiert-ungesättigte Systeme viel leichter als man früher annahm. Schon das Bleichen der gepreßten und extrahierten Öle führt dazu, ja sogar schon das Stehen der Fette bei nicht völligem Luftabschluß, eine Beobachtung, die uns zu dem Studium des Fettverderbens unter dem Gesichtspunkt des Auftretens von konjugiert-ungesättigten Fettsäuren veranlaßte. Aus diesen Gründen haben wir die Fette auf vorsichtigste Weise gewonnen, bei Tierfetten durch Entnahme sofort nach der Tötung der Tiere, bei Butterfett durch Ver-

\* ) Studien auf dem Fettgebiet, 117. Mitteil., zugleich 5. Mitteil. über die Bedeutung konjugiert-ungesättigter Fettsäuren in der Fettchemie.

<sup>1)</sup> Siehe die vorstehende Mitteil., B. 81, 152 [1948].

<sup>2)</sup> Siehe hierzu H. P. Kaufmann u. P. Kirsch, Fette u. Seifen 50, 314 [1943].

<sup>3)</sup> Über die Anwendung der Spektrographie auf dem Fettgebiet, siehe H. P. Kaufmann u. M. C. Keller, Fettchem. Umschau 38, 241 [1931]; Fette u. Seifen 51, 405 [1944].

wendung frisch gemolkener Milch, bei Ölsaaten durch Extraktion (z.B. mit Äthylchlorid) und Verdampfung der besonders gereinigten Lösungsmittel bei Zimmertemperatur. Wenn auch schon häufig die Menge der konjugiert-ungesättigten Fettsäuren eine Beeinflussung des Absorptionsspektrums durch das Unverseifbare ausschloß, so wurden doch in vielen Fällen die freien Fettsäuren dargestellt und spektrographisch geprüft. Aber auch hierbei ist größte Vorsicht geboten, da die warme Verseifung und die Gegenwart von Luft einerseits zu einer Veränderung vorhandener konjugiert-ungesättigter Säuren, andererseits aber auch zu einer Verschiebung der Doppelbindungen isoliert-ungesättigter Fettsäuren führen können<sup>4).</sup>

Bei den in Heptanlösung spektrographisch untersuchten Fetten bzw. ungesättigten Fettsäuren der C<sub>18</sub>-Reihe sind die Maxima bei 230 m $\mu$ , 270 m $\mu$  und 300 m $\mu$  für Dien-, Trien- und Tetraensäuren charakteristisch. Ihre Menge erreichte bei den bisher untersuchten tierischen Fetten (Rind, Kalb, Pferd, Schwein, Hammel, Reh, Hund, Huhn, Meerschweinchen) maximal einige Prozente; meist handelte es sich nur um Bruchteile von einem Prozent. So fanden wir im Butterfett maximal 2.5% Dien- und 0,7% Triensäuren, im Nierenfett des Hammels 2,2%, im Darmfett des Rinds 0,9%, im Bauchspeck des Schweins nur 0,3% Diensäuren.

In Anbetracht der großen Reaktionsfähigkeit dieser Säuren ist dieser Befund nicht überraschend. Die Prüfung der Körperfette von Kaltblütern soll noch durchgeführt werden. An die Beeinflussung der Zusammensetzung der Fette durch das Futter muß gedacht werden.

Bei den pflanzlichen Fetten sind die physiologischen Bedingungen für die Erhaltung größerer Mengen konjugiert-ungesättigter Fettsäuren günstiger. Es war uns aufgefallen, daß diese bisher in den Samen solcher Pflanzen gefunden wurden, die einen hohen Wasserbedarf haben und im Schatten sowie auf sumpfigem Boden besonders gut gedeihen. Der Tungbaum, dessen Früchte, in wasserreiches Fruchtfleisch eingebettet, bis 80% Eläostearinsäure enthalten, wächst in sumpfigen Gebieten. Die Impatiens-Arten gedeihen besonders gut an wasserreichen Standorten; ihre Stengel sind äußerst saftreich. Als wir nun die Samen verschiedener Irisarten (*I. pseudacorus*, *I. sibirica*, *I. graminea*), als ausgesprochene Wasserpflanzen bekannt, untersuchten, fanden wir darin neben 3.5% zweifach konjugiert-ungesättigten Fettsäuren 10%, 9.3% und 6.9% dreifach konjugiert-ungesättigte. Eine Irisart der amerikanischen Steppe jedoch (*Sisyrinchium anceps*) hatte unter 1% konjugiert-ungesättigte Säuren im Samenfett. Die Samen der Teichrose (*Nymphaea alba*) enthielten neben 5% zweifach konjugiert-ungesättigter Fettsäuren 0.8% dreifach und 1.5% vierfach ungesättigter Fettsäuren. Ob es sich in diesen Fällen um Zusammenhänge zwischen Wasserhaushalt und Konstitution der Fettsäuren der Samen handelt, müssen weitere Versuche zeigen. Es ist bereits bekannt, daß isoliert-ungesättigte Fettsäuren im Samen der gleichen Pflanze in größerer Menge in kälterem Klima vorkommen (S. Iwanow), eine Erscheinung, die K. Schmalfuß<sup>5)</sup> mit dem Wasserhaushalt in Zusammenhang bringt. Da dieser auch von Düngungsmaßnahmen abhängt, soll noch untersucht

<sup>4)</sup> Fette u. Seifen 51, 404 [1944].

<sup>5)</sup> Bodenkunde und Pflanzenernährung I, 1 [1936]; Angew. Botanik 17, 139 [1935]; Der Forschungsdienst, Sonderheft, 6 [1936]; Fette u. Seifen 44, 31 [1937].

werden, wie durch die Düngung der Gehalt an konjugiert-ungesättigten Fettsäuren beeinflußt wird.

Die Samenfette zahlreicher anderer Pflanzen erreichten nur in einem Falle (*Sambucus nigra*) einen Gehalt von 1% konjugierter Fettsäuren. Meist lagen die Werte darunter. Man hat also mit Recht bei den bisherigen Methoden, deren Genauigkeit nur einige Prozente beträgt, diese Säuren vernachlässigen können.

Die zunächst nur spektrographisch erkannten Dien-, Trien- und Tetraensäuren müssen isoliert und in ihrer Konstitution erforscht werden. Hierzu sind teilweise erhebliche Mengen der Fette notwendig. Die bisher bekannten Verfahren der Abscheidung einzelner Fettsäuren reichen nicht aus. Ihre Verfeinerung wird durch die leichte Veränderung der konjugiert-ungesättigten Fettsäuren, besonders der Polyensäuren, beträchtlich erschwert.

Das Studium der konjugiert-ungesättigten Fettsäuren leitet einen neuen Abschnitt in der Fettforschung ein; die Methodik der analytischen und präparativen Fettchemie erfährt eine wesentliche Vervollkommnung. Die Möglichkeit, isolierte Doppelbindungen in konjugierte zu verwandeln, bedeutet die Lösung des Problems der Überführung halbtrocknender Öle<sup>6</sup>) in trocknende. Der Chemismus der Polymerisation (Standölbildung) und auch des Fettverderbens erscheinen in neuem Licht; darüber hinaus eröffnen sich aber neue Ausblicke auf dem Gebiet der Biologie der Fette. Neben der Rolle, die konjugiert-ungesättigte Fettsäuren möglicherweise als lebenswichtige Bestandteile der Nahrung („Vitamin F“) spielen, sind es besonders Fragen der Fettbildung und des Fettabbaus im Organismus, die beantwortet werden müssen. An dieser Stelle sei nur auf die Beziehungen von Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel kurz hingewiesen.

Über die Bildung von Fetten aus Kohlenhydraten liegt ein umfassendes Schrifttum vor, auf das hier nicht eingegangen werden kann. Von den zur Erörterung stehenden Möglichkeiten sei der Abbau des Zuckers zu Acetaldehyd und die Aldol-Kondensation desselben zu Polyyenaldehyden, aus denen dann die verschiedenen Fettsäuren sich bilden können, genannt. Dieser Weg erklärt die Tatsache, daß Naturfette nur Fettsäuren mit gradzahliger Kohlenstoffkette enthalten; er ist durch R. Kuhn<sup>7)</sup> und Mitarbeiter präparativ verwirklicht worden. Nachdem nunmehr erkannt wurde, daß Fettsäuren mit konjugierten Doppelbindungen in jedem der bisher untersuchten Fette vorhanden sind, erfährt die vorgenannte Erklärung des Übergangs von Zucker in Fette eine starke Stütze. Ob die durch Aldol-Kondensation gebildeten Polyyenaldehyde im Organismus erst reduziert und dann oxydiert werden oder ob beide Vorgänge gekoppelt sind, kann noch nicht entschieden werden. Das Studium der in Lipoiden vorkommenden Aldehyde könnte darüber Auskunft geben. Wir werden auch auf diesem Gebiet die Spektrographie heranziehen.

Die Möglichkeit der Mitwirkung des Acetaldehyds an der Bildung der Fette bzw. Fettsäuren gewinnt weiter eine nahezu als Beweis anzusprechende Wahrscheinlichkeit durch das Auftreten der Essigsäure neben den konjugiert-ungesättigten Fettsäuren im gemischten Glycerid, wie sie mit M. C. Keller<sup>1)</sup>

<sup>6)</sup> H. P. Kaufmann u. G. Ganef, Fette u. Seifen 50, 425 [1943]; H. P. Kaufmann u. M. C. Keller, ebenda 51, 404 [1944].

<sup>7)</sup> R. Kuhn u. M. Stoffer, B. 68, 2164 [1936]; R. Kuhn u. Ch. Grundmann, ebenda 70, 1318 [1937].

für die Samenöle der Impatiens-Arten gezeigt werden konnte. Ein Teil des Acetaldehyds wird kondensiert und in hochmolekulare Fettsäuren verwandelt, ein anderer aber sofort zu Essigsäure oxydiert. Beide finden sich dann nach Veresterung im gemischten Glycerid wieder. Das Glycerin wird gleichfalls durch Abbau des Zuckers geliefert. Acetaldehyd- und Glycerin-Bildung sind mit den biologischen Vorgängen der Aldol-Kondensation, der Bildung der Fettsäuren und der Veresterung derselben verbunden, wenn sie nicht gleichzeitig verlaufen. Damit werden die Zucker als Lieferanten beider Bausteine der Fette auf das engste mit dem Fettstoffwechsel verknüpft, weit enger, als es z.B. bei dem Eiweiß der Fall ist.

Die Veresterung der Fettsäuren mit Glycerin geht nach neueren Anschauungen über die Phosphatide. Daß die letztgenannten häufig einen besonders hohen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren haben, ist bekannt. Auch hier führen wir die Untersuchung in Richtung der konjugiert-ungesättigten Säuren durch. Gemeinsam mit Frl. Dr. Maria Schmidt habe ich daneben in Tierversuchen Ergebnisse erzielt, aus denen die besondere Rolle der Phosphatide bei der Fettbildung einwandfrei zu erkennen ist. Wir wählten als Versuchsobjekt eine besondere Wurmart, *Lycastis ranauensis Feuerborn*, die in Südsumatra beheimatet ist. Sie wurde von H. J. Feuerborn von einer Forschungsreise mitgebracht und läßt sich unter besonderen Vorsichtsmaßregeln sehr gut züchten. Bei verhältnismäßiger Größe (9—12 cm Länge und 4—5 mm Breite) zeichnet sich *Lycastis* durch seine gute Durchsichtigkeit aus, die eine genaue Beobachtung des Darmtraktus, des Blutkreislaufs, der Nähr- und Eizellenbildung und auch, bei geeigneter Vitalfärbung, des Exkretionssystems erlaubt. Die Gegenwart kleinsten Mengen von Phosphatiden in der Kohlenhydrat-Nahrung der Würmer führte bei unseren Versuchen zu einer außerordentlichen Steigerung der Fettbildung, verbunden mit schnellerem Wachstum und vorzeitiger Eibildung. Das Fett lagert sich in derben, gelblichen Massen zunächst in gewissen Abschnitten des Mitteldarms ab, um von dort nach und nach in die Nährzellen abzuwandern. Der Ort der Fettbildung ist also die Darmwand. Wir werden über diese Versuche, die geeignet sind, ganz neue Erkenntnisse auf dem Gebiet des Fettstoffwechsels zu vermitteln, an anderer Stelle eingehend berichten<sup>8)</sup>.

#### Beschreibung der Versuche.

Bei der Isolierung der Fette zum Zweck vorstehender Untersuchungen handelte es sich nicht um eine quantitative Erfassung derselben. Vielmehr mußte durch vorsichtigste Arbeitsweise jede Veränderung ausgeschlossen werden. Bei tierischen Fetten wurde das Fettgewebe sofort nach der Tötung der Tiere — im Laboratorium oder im Schlachthaus — in das Lösungsmittel (Petroläther vom Sdp. 35—50°, Pentan oder Äthylchlorid) gebracht und unter diesem mit Seesand und wasserfreiem Natriumsulfat verrieben. Bei pflanzlichen Fetten behandelte man die Samen oder das Fruchtfleisch sofort nach der Ernte in gleicher Weise. Die Verwendung von Äthylchlorid macht die Kühlung der Gefäße mit Kohlensäureschnee nötig. Zur Isolierung des Milchfetts wurden 200 ccm frisch gemolkene

<sup>8)</sup> Leider mußten die Versuche zunächst aufgegeben werden, da uns das gesamte Versuchsmaterial — über 4000 Tiere — bei einem Fliegerangriff verloren ging. Sobald es wieder zu beschaffen ist, soll diese Arbeit auf breiter Basis fortgesetzt werden.

Milch mit 40 ccm 3-proz. Ammoniak-Lösung und anschließend mit 200 ccm Alkohol behandelt. Nach dem Umschütteln setzte man zunächst 100 ccm Äther, dann nach dem Durchschütteln die gleiche Menge Petroläther hinzu. Aus der erhaltenen Lösung verjagte man i.Vak. das Lösungsmittel, nahm den Rückstand nochmals mit Petroläther oder Pentan auf, trocknete die Lösung und saugte das Lösungsmittel ab.

Zur Isolierung der Fette zwecks Gewinnung unveränderter Fettsäuren und Be- seitigung von Begleitstoffen wurde mit alkohol. Kalilauge 12 Stdn. i.Vak. oder unter Stickstoff im Dunkeln (braune Exsiccatoren) behandelt und die auf Zusatz von Wasser entstandene Lösung solange mit Petroläther ausgeschüttelt, bis nach dem Abdunsten desselben kein Rückstand mehr blieb. Die sich nach dem Ansäuern der Seifenlösungen abscheidenden Fettsäuren nahm man mit Äther auf, trocknete die Lösung über wasser- freiem Natriumsulfat und verjagte das Lösungsmittel unter Verwendung eines guten Vakuums.

Die spektrographische Messung geschah in Heptanlösung der Fette bzw. Fettsäuren. Alle Lösungsmittel mußten sorgfältig gereinigt und Blindversuche, unter Verwendung der gleichen Menge der Lösungsmittel wie beim eigentlichen Versuch, angestellt werden, damit jede Störung des spektrographischen Befunds durch Verunreinigungen ausgeschlossen war. In einem Fall gelangte auch das mit Hilfe der Petroläther-Methode isolierte Unverseifbare zur spektrographischen Untersuchung. Es zeigte sich dabei, daß die Absorption des Unverseifbaren das Ergebnis der spektrographischen Bestimmung der Fette bzw. Fettsäuren nur unwesentlich beeinflußt.

## 26. Erich Clar und Helmut Frömmel: 1.2,3.4-Dibenz-pentacen und seine Untersuchung nach dem Anellierungsverfahren (Aromatische Kohlenwasserstoffe, XLV. Mitteilung).

[Aus dem Zentrallaboratorium der Rütgerswerke A.G.]

(Eingegangen am 14. Juli 1947.)

Benzophenon-tricarbonsäure-(2.4.5)-anhydrid wird mit Okta- hydro-phenanthren kondensiert, die Diketo-dicarbonsäure reduziert, doppeltem Ringschluß unterworfen und das erhaltene Dihydro-dibenz-pentacen zum 1.2,3.4-Dibenz-pentacen dehydriert, dessen Absorptionspektrum nach dem Anellierungsverfahren analysiert wird.

In der XLIII. Mitteil.<sup>1)</sup> wurde Benzophenon-tricarbonsäure-(2.4.5)-anhydrid (I) und seine Reaktion mit Naphthalin in Gegenwart von Aluminiumchlorid beschrieben. Es wurde auch bereits auf seine Verwendbarkeit an Stelle von Phthalsäureanhydrid bei zahlreichen Friedel-Craftsschen Reaktionen hingewiesen.

Wir beschreiben nun seine Kondensation mit 1.2.3.4.5.6.7.8-Oktahydro-phenanthren, die in Tetrachloräthan mit Aluminiumchlorid in der erwarteten Weise gelang. Sie kann a priori zu zwei Kondensationsprodukten führen, einer Isophthal- und einer Terephthalsäure. Da beide Säuren beim Ringschluß denselben Kohlenwasserstoff ergeben müssen, haben wir eine Konstitutionsermittlung nicht durchgeführt. Wenn überhaupt zwei Isomere entstehen, so möchten wir dem durch Krystallisation gereinigten Produkt wegen der erwartungsgemäß geringeren Löslichkeit der Terephthalsäure II die Formel dieser Säure und nicht die der entsprechenden Isophthalsäure zuschreiben.

Da ein direkter Ringschluß der Säure II nicht gelang, haben wir sie mit verkupfertem Zinkstaub und Natronlauge reduziert. Dabei konnten zwei Säu-

<sup>1)</sup> E. Clar, B. 81, 63 [1948].