

Beiträge zur Kenntnis der aus Pflanzen darstellbaren Lecithine. (Erste Mitteilung.)

Von
E. Schulze und **E. Winterstein.**

(Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaktion zugegangen am 9. Oktober 1903.)

Die schon vor mehreren Jahrzehnten ausgesprochene, damals aber noch nicht sicher bewiesene Annahme, daß zu den in den Pflanzen verbreiteten Stoffen auch die Lecithine gehören, hat durch die von E. Schulze in Verbindung mit E. Steiger, A. Likiernik und S. Frankfurt ausgeführten Untersuchungen,¹⁾ denen die Arbeiten einiger anderer Autoren sich anschlossen, eine Begründung erhalten. E. Schulze und A. Likiernik stellten eine in ihren Eigenschaften und in ihrem chemischen Verhalten mit Lecithin übereinstimmende Substanz aus fein zerriebenen Lupinen- und Wickensamen in folgender Weise dar: Das mittels Äther so vollständig wie möglich vom Fett befreite Samenpulver wurde bei 50° C. mit absolutem Alkohol extrahiert, der filtrierte Auszug bei der gleichen Temperatur eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Äther

¹⁾ Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in folgenden Abhandlungen mitgeteilt worden: Über den Lecithingehalt der Pflanzensamen, von E. Schulze und E. Steiger, Diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 365—384.

Über das Lecithin der Pflanzensamen, von E. Schulze und A. Likiernik, *ibid.*, Bd. XV, S. 405—414.

Über die Bestimmung des Lecithingehaltes der Pflanzensamen, von E. Schulze, *ibid.*, Bd. XX, S. 225—232.

Über den Lecithingehalt einiger vegetabilischer Substanzen, von E. Schulze und S. Frankfurt, Landwirtsch. Versuchsstationen, Bd. 43, S. 307—318.

behandelt, die ätherische Lösung durch Schütteln mit Wasser unter Zusatz von etwas Kochsalz gereinigt und sodann eingedunstet. Dabei verblieb eine bräunlichgelb gefärbte Masse, welche 3,7–3,8% Phosphor enthielt und allem Anschein nach hauptsächlich aus Lecithin bestand; bei der Zersetzung durch siedendes Barytwasser lieferte sie die Spaltungsprodukte des Lecithins, nämlich Cholin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren. Aus der Auflösung dieses als «Rohlecithin» zu bezeichnenden Produktes in heißem Weingeist schied sich bei starker Abkühlung eine amorphe Substanz aus, welche die Eigenschaften des Lecithins besaß und 3,68% Phosphor enthielt.

Nach dem gleichen Verfahren hat später J. Stoklasa¹⁾ aus Haferkeimlingen Lecithin dargestellt. Das von ihm erhaltene Präparat, welches ebenfalls durch Abscheidung aus der stark abgekühlten weingeistigen Lösung gereinigt worden war, enthielt 4,23% Phosphor und lieferte bei der Spaltung durch Barytwasser neben Fettsäuren etc. Cholin. Aus dem Steinpilz (*Boletus edulis*) erhielten E. Schulze und S. Frankfurt (loc. cit.) in der gleichen Weise ein Rohlecithin, welches 3,41% Phosphor enthielt und bei der Spaltung durch Barytwasser die oben genannten Zersetzungsprodukte des Lecithins lieferte. Zu einem übereinstimmenden Resultate kamen E. Winterstein und J. Hofmann²⁾ bei der Untersuchung von *Agaricus campestris*. Aus Roggen- und Gerstensamen erhielten E. Schulze und S. Frankfurt ein Rohlecithin, in welchem nur etwas mehr als 2% Phosphor gefunden wurde; vielleicht schloß dieses Produkt neben Lecithin noch eine andere Substanz in beträchtlicher Menge ein.

Wie aus den oben gemachten Angaben zu ersehen ist, gründet sich die zur Darstellung des Lecithins benutzte Methode auf die Tatsache, daß bei Behandlung gepulverter Samen oder anderer Pflanzenteile mit Äther ein beträchtlicher Teil des in diesen Objekten vorhandenen Lecithins ungelöst bleibt, aus dem

¹⁾ Sitzungsberichte der K. K. österreich. Akad. d. Wissensch. in Wien, mathem.-naturwissensch. Klasse, Bd. 104, Abt. I, Juli 1895.

²⁾ Mitgeteilt in der Inauguraldissertation J. Hofmanns «Über die chemischen Bestandteile einiger Pilze», Zürich 1902.

Rückstände aber durch heißen Weingeist ausgezogen werden kann. Wahrscheinlich findet sich dieser Teil des Lecithins in einer lockeren Verbindung mit einem Eiweißstoff als Lecithalbumin vor; die Verbindung wird durch Erhitzen mit Weingeist zerlegt. Das dabei in Freiheit gesetzte Lecithin löst sich dann leicht in Äther auf. Aus jener Tatsache folgt ohne weiteres, daß der Phosphorgehalt der Ätherextrakte keinen Maßstab für den Lecithingehalt der betreffenden pflanzlichen Substanzen abgibt;¹⁾ um diesen Lecithingehalt berechnen zu können, muß man auch den Phosphorgehalt der alkoholischen Extrakte oder doch wenigstens des in Äther löslichen Anteils dieser Extrakte berücksichtigen. Dies geschah bei Ausführung der Lecithinbestimmungen, deren Resultate von E. Schulze, E. Steiger und S. Frankfurt (loc. cit.) mitgeteilt worden sind; wie in den bezüglichen Abhandlungen wiederholt hervorgehoben wurde, sind aber diese Resultate nur gültig unter der Voraussetzung, daß der Phosphor im ätherisch-alkoholischen Extrakt ausschließlich dem Lecithin angehörte.²⁾

Aus den im vorigen gemachten Angaben ist schon zu

¹⁾ Es kommt vor, daß der Ätherextrakt aus einem Pflanzensamen nur Spuren von Phosphor enthält; man würde also, wenn man sich nur auf die Untersuchung des Ätherextraktes stützen wollte, diesen Samen für fast frei von Lecithin erklären müssen. Die Bestimmung des Phosphorgehaltes der Ätherextrakte ist daher für sich allein fast ohne Wert.

²⁾ Auch ist in früher publizierten Abhandlungen darauf aufmerksam gemacht worden, daß man den Lecithingehalt eines Objectes aus dem Phosphorgehalt des ätherisch-alkoholischen Extrakts nur dann in ganz korrekter Weise berechnen kann, wenn man weiß, wie viel Phosphor das im Untersuchungsobject sich vorfindende Lecithin enthält. Allerdings differiert der Phosphorgehalt des Distearyllecithins (= 3,84% P) von demjenigen des Dioleylecithins (= 3,86% P) so wenig, daß es für die Berechnung fast gleichgültig ist, ob die eine oder die andere jener beiden Verbindungen vorhanden ist; etwas höher ist der Phosphorgehalt des Dipalmyllecithins = 4,12%. Übrigens sind schon die für den Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extrakte gefundenen Zahlen für sich allein von Wert; auch wird es vielleicht möglich sein, nach Vervollständigung unserer Kenntnisse über die pflanzlichen Lecithine aus diesen Zahlen den Lecithingehalt der betreffenden Objecte unter Anwendung eines anderen Faktors genauer zu berechnen.

ersehen, daß die Kenntnisse, die wir über die pflanzlichen Lecithine besitzen, noch lückenhaft sind. Vor allem ist darauf aufmerksam zu machen, daß keines der von uns untersuchten Lecithinpräparate pflanzlicher Herkunft mit Sicherheit für eine chemisch einfache Substanz erklärt werden kann. Letzteres könnte vielleicht geschehen, wenn nachgewiesen wäre, daß das bezügliche Präparat bei der Spaltung neben Cholin und Glycerinphosphorsäure entweder nur eine einzige Fettsäure (z. B. Stearinsäure oder Ölsäure) oder ein Gemenge von zwei Molekülen verschiedener Fettsäuren geliefert hätte. Ein solcher Nachweis ist aber bis jetzt nicht beigebracht worden. Es liegt im Bereich der Möglichkeit, daß an der Konstitution der pflanzlichen Lecithine neben Stearinsäure, Palmitinsäure und Ölsäure auch noch andere Fettsäuren beteiligt sind;¹⁾ da nun die von den verschiedenen Fettsäuren sich ableitenden Lecithine nebeneinander vorkommen können, so liegt es auf der Hand, daß ein aus einer Pflanze dargestelltes Lecithinpräparat eine recht komplizierte Zusammensetzung besitzen kann. Dazu kommt aber noch, daß in solchen Präparaten auch dem Lecithin ähnliche Stoffe, wie sie aus dem Tierkörper mehrfach dargestellt worden sind, sich vorfinden können — ein Umstand, auf welchen E. Schulze und seine Mitarbeiter früher schon aufmerksam gemacht haben.²⁾ Von W. Koch³⁾ ist vor kurzem vorgeschlagen worden, das Lecithin und die demselben ähnlichen Substanzen (Kephalin, Myelin etc.) unter der als Gruppennamen zu verwendenden Bezeichnung «Lecithane» zusammenzufassen; unter «Lecithan» wäre also eine wachsartige hygroskopische Substanz zu verstehen, an

¹⁾ Auch im Lecithin des Eidotters findet sich nach neueren Untersuchungen neben Palmitinsäure, Stearinsäure und Ölsäure mindestens noch eine andere Fettsäure vor; wir verweisen auf die Untersuchungen von Henriques und Hansen (Referat im Biochem. Zentralbl. 1903, S. 742), von Cousin (Referat *ibid.* 1903, S. 700) und von Laves (Vortrag auf der Naturforscherversammlung in Kassel, Refer. in der Chem.-Zeitung 1903, No. 78). Nach Laves kann man aus dem Eidotter Lecithine gewinnen, die in Konsistenz, Löslichkeit, Aussehen und chemischer Zusammensetzung sehr verschieden von einander sind.

²⁾ Wir verweisen insbesondere auf die in den Landw. Versuchsst. Bd. 43, S. 312 gemachten Äußerungen.

³⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXVII, S. 181.

deren Aufbau Phosphorsäure, die höheren gesättigten und ungesättigten Fettsäuren, stickstoffhaltige Gruppen und Glycerin beteiligt sind. Wir würden den Vorschlag Kochs auch für die im folgenden zu machenden Mitteilungen akzeptieren und demgemäß die von uns dargestellten Präparate als Lecithane bezeichnen, wenn schon der Beweis dafür erbracht wäre, daß auch in den Pflanzen dem Lecithin ähnliche Phosphorverbindungen sich finden und wenn nicht in den aus unserem Laboratorium früher hervorgegangenen Abhandlungen, auf deren Inhalt wir öfters Bezug nehmen müssen, ausschließlich der Name «Lecithin» angewendet worden wäre.

Es wird nun die Aufgabe sein, die Zusammensetzung und das Verhalten der pflanzlichen Lecithine eingehender zu untersuchen. Die Überzeugung, daß die zu dieser Stoffgruppe gehörenden Substanzen im Organismus eine wichtige Rolle spielen, gewinnt mehr und mehr an Boden; neben den aus dem Tierkörper dargestellten Gliedern dieser Gruppe müssen daher auch diejenigen, welche sich in den Pflanzen vorfinden, bedeutendes Interesse erregen.

Wenn schon die im vorigen gemachten Darlegungen eine Fortführung der vor etwa einem Jahrzehnt in unserem Laboratorium begonnenen Untersuchungen über die pflanzlichen Lecithine als wünschenswert erscheinen ließen, so gaben einige früher gemachte Beobachtungen dazu noch eine spezielle Veranlassung. E. Schulze und A. Likiernik (loc. cit.) fanden, daß beim Auflösen des aus Leguminosensamen dargestellten Rohlecithins in warmem Weingeist eine in diesem Lösungsmittel sehr schwer lösliche Substanz zurückblieb. Da diese Substanz 3,9% Phosphor enthielt und sich in Äther leicht auflöste, so schien ein «Lecithan» von eigentümlicher Beschaffenheit vorzuliegen. Es war von Interesse, dieses Produkt näher zu untersuchen. Ferner erhielten E. Schulze und S. Frankfurt (loc. cit.) aus Gerstensamen ein Rohlecithin, in welchem nur 2,23% Phosphor gefunden wurden; ein ähnlicher Phosphorgehalt ergab sich für ein aus Roggensamen in gleicher Weise dargestelltes Präparat. Dieses, in Übereinstimmung mit einer vor kurzem von W. Koch (loc. cit.) gemachten Angabe stehende

Resultat¹⁾ würde sich allerdings durch die Annahme erklären lassen, daß in den bezüglichen Präparaten neben Lecithin eine phosphorfreie oder an Phosphor arme Substanz in beträchtlicher Quantität sich vorfand; doch kann es auch als möglich bezeichnet werden, daß die genannten Samen ein «Lecithan» von eigentümlicher Beschaffenheit enthielten. Es schien daher angezeigt, auch diese Beobachtung weiter zu verfolgen.

Das Studium der pflanzlichen Lecithine ist eine Aufgabe, die sich nicht ohne bedeutenden Arbeitsaufwand und demgemäß auch nicht innerhalb kurzer Zeit bewältigen läßt. Wenn wir schon jetzt mit einem Teile der dabei erhaltenen Resultate hervortreten, so geschieht dies in dem Wunsche, durch diese Publikation uns die ungestörte Fortführung der in Angriff genommenen Untersuchungen sichern zu können.

Darstellung von Lecithinpräparaten aus Lupinen- und Wickensamen.

Wie früher schon erwähnt worden ist, geht bei Behandlung gepulverter Pflanzensamen mit Äther nur ein Teil des im Untersuchungsobjekt vorhandenen Lecithins in Lösung. Da verschiedene Muster der gleichen Samensorte in manchen Fällen an den Äther ganz ungleiche Quantitäten phosphorhaltiger Substanz abgeben, während der aus dem Phosphorgehalt des ätherisch-alkoholischen Extrakts berechnete Lecithingehalt bei der gleichen Samensorte in der Regel nur geringe Schwankungen zeigt, so muß man annehmen, daß ein bald größerer, bald geringerer Teil des Lecithins mit einem Eiweißstoff oder einer anderen Substanz verbunden ist und so der Auflösung in Äther entgeht.

Aus dem ätherischen Auszug haben wir in folgender Weise Lecithin dargestellt: Wir unterwarfen diesen Auszug der Destillation und behandelten das dabei verbliebene flüssige Fett (ca. 120 g aus ca. 2¹/₂ Kilo Lupinensamen stammend) mit absolutem Alkohol, und zwar wurde dasselbe zuerst im Scheidetrichter mit Alkohol durchgeschüttelt, dann noch mit Alkohol erhitzt. Den in dieser Weise erhaltenen alkoholischen Auszug unterwarfen wir einer fraktionierten Ausfällung mit einer heißen

¹⁾ Koch fand in einem Lecithan aus Gerste 2,4%, in einem Lecithan aus Malz 2,3% Phosphor.

alkoholischen Chlorcadmiumlösung. Die erste dunkel gefärbte Fällung, welche sich nach wiederholtem Umrühren binnen 24 Stunden zu einem Klumpen zusammengeballt hatte, wurde entfernt, die davon abfiltrirte schwach gelb gefärbte Flüssigkeit sodann wieder mit Chlorcadmium versetzt. Die nun entstandene voluminöse, fast farblose Fällung brachten wir nach Verlauf von zwei Tagen aufs Filter und wuschen sie fünfmal mit absolutem Alkohol aus. Dann befreiten wir sie durch Pressen zwischen Fließpapier möglichst vollständig vom Alkohol, zerrieben sie hierauf unter Zusatz von Äther und wuschen sie schließlich viermal mit Äther aus. Der größte Teil der Chlorcadmiumverbindung blieb dabei zurück, in Lösung ging nur ein kleiner Teil (daß diese Lösung Lecithin enthielt, ist daraus zu schließen, daß die beim Verdunsten derselben zurückbleibende Substanz sowohl stickstoff- wie phosphorhaltig war). Die Chlorcadmiumverbindung wurde nun mit absolutem Alkohol verrieben; nachdem die Flüssigkeit bis zum Sieden erhitzt worden war, setzten wir fein gepulvertes Ammoniumkarbonat in kleinen Portionen unter häufigem Umschütteln so lange zu, bis die Flüssigkeit schwach alkalisch reagierte und schwach nach Ammoniak roch. Um einer vollständigen Zersetzung der Chlorcadmiumverbindung sicher zu sein, wurde schließlich noch die alkoholische Lösung abgegossen, das Ungelöste noch einmal mit Alkohol verrieben und dann eine halbe Stunde lang im Wasserbade erhitzt. Die alkoholischen Lösungen wurden nun der Filtration unterworfen, der ungelöste Rückstand auf dem Filter mit heißem Alkohol, schließlich noch mit Äther ausgewaschen, die Filtrate bei 50° eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand lösten wir mit absolutem Äther und schüttelten die ätherische Lösung mit Wasser durch; zur Beseitigung einer dabei entstandenen Emulsion setzten wir etwas Alkohol zu. Nach einiger Zeit hatten sich in der Flüssigkeit drei Schichten gebildet. Die oberste, nur schwach gefärbte ätherische Schicht lieferte beim Verdunsten ein bräunlichgelb gefärbtes Produkt, welches sich in Äther wie in Alkohol klar auflöste; die alkoholische Lösung gab sowohl mit Chlorcadmium wie mit Platinchlorid weiße Niederschläge.

Wie man sieht, haben wir bei der Darstellung dieses Lecithinpräparates im wesentlichen die von Bergell¹⁾ gegebenen Vorschriften befolgt. Über die Zusammensetzung und die Spaltungsprodukte des in dieser Weise gewonnenen Lecithins werden wir später Mitteilungen machen.

Wie früher schon erwähnt worden ist, bleibt bei Behandlung gepulverter Pflanzensamen mit Äther stets ein Teil des Lecithins ungelöst. Zur Gewinnung dieses wahrscheinlich als Lecithalbumin sich vorfindenden Lecithins schlugen wir den von E. Schulze und A. Likiernik (loc. cit.) angegebenen Weg ein, zerlegten aber das dabei erhaltene Produkt in mehrere Präparate. Als Ausgangsmaterial verwendeten wir Samen von *Lupinus luteus*, *Lupinus albus* und *Vicia sativa*. Die in ein staubfeines Pulver verwandelten Samen wurden zunächst mittels Äther so vollständig wie möglich entfettet, dann in einem Glaskolben mit Alkohol bei 50—55° zweimal extrahiert.²⁾ Die Auszüge trennten wir mit Hilfe einer Nutsche vom Rückstande; dann wurden sie in flachen Schalen bei ca. 50° C. eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelten wir mit Äther unter Zusatz von etwas Wasser und schüttelten die ätherische Lösung zur Reinigung wiederholt mit Wasser durch. Dabei entstand zuweilen, aber nicht in jedem Falle, eine Emulsion, zu deren Beseitigung wir entweder Kochsalzkrystalle oder etwas Weingeist zusetzten. Die in dieser Weise gereinigten ätherischen Lecithinlösungen wurden nach der Trennung von der wässrigen Schicht meistens direkt eingedunstet; in einigen Fällen haben wir sie zuvor zur Entfernung des vom Äther aufgenommenen Wassers mit Chlorcalcium behandelt, können aber nicht bestimmt behaupten, daß diese Behandlung einen wesentlichen Vorteil brachte.³⁾

1) Ber. der deutsch. chem. Ges., Bd. 33, S. 2584.

2) In einigen Fällen wurde bei der Extraktion zur Neutralisation vorhandener organischer Säuren etwas Calciumcarbonat zugesetzt; doch glauben wir nicht, daß dies einen Vorteil bringt, da die Lecithine ziemlich widerstandsfähig gegen Säuren sind.

3) Die ätherischen Lösungen trübten sich nach dem CaCl_2 -Zusatz und klärten sich erst wieder nach längerem Stehen.

Das nach dem Verdunsten des Äthers verbliebene Rohlecithin bildete eine bald mehr, bald weniger braungelb gefärbte Masse von salbenartiger Konsistenz. Dieses Produkt wurde nun mit warmem Alkohol behandelt. Dabei blieb in jedem Falle ein in diesem Lösungsmittel sehr schwer löslicher Rückstand. Wir trockneten denselben nach dem Abgießen der Lösung und Nachwaschen mit Alkohol im Vacuum über Schwefelsäure. Er bildete nun eine nur wenig gefärbte, zerreibliche, nicht in Aceton, dagegen leicht in Chloroform und in Äther lösliche Masse. Über die Zusammensetzung dieses in wechselnder Menge¹⁾ erhaltenen Produktes werden wir weiter unten Mitteilungen machen.

Die von diesem Rückstand getrennte alkoholische Lösung gab auf Zusatz von alkoholischer Chlorcadmiumsolution eine Fällung, deren Quantität in einigen Fällen keine sehr große war. Aus dieser Fällung ließ sich in der oben beschriebenen Weise Lecithin gewinnen. Über die Zusammensetzung des so erhaltenen Präparates sollen später Mitteilungen gemacht werden.

Die von der Chlorcadmiumfällung abfiltrierte Flüssigkeit enthielt noch eine beträchtliche Quantität von Lecithin. Zur Gewinnung desselben und zur Entfernung des beigemengten Chlorcadmiums wurde diese Flüssigkeit eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in Äther aufgenommen, die ätherische Lösung zur Reinigung mit Wasser durchgeschüttelt und dann wieder eingedunstet. Daß in dem so gewonnenen Produkte Lecithin enthalten war, ist aus den Ergebnissen zu schließen, die bei Spaltung dieses Produktes durch Barytwasser erhalten wurden. Über den bezüglichen Versuch sind folgende Angaben zu machen. Wir erhitzten ein Quantum von ca. 30 g eines aus den Samen von *Lupinus luteus* gewonnenen Präparates ca. 2 Stunden lang mit Barytwasser. Dann wurde die Flüssigkeit durch Filtration von den unlöslichen Barytseifen getrennt, durch Einleiten von Kohlensäure vom Baryumhydroxyd befreit, hierauf eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelten wir

¹⁾ Seine Menge überstieg wohl niemals 10—12% der in dem betreffenden Objekt im ganzen vorhandenen Lecithinquantität, war aber in anderen Fällen weit geringer.

wiederholt mit absolutem Alkohol. Ungelöst blieb eine in Wasser leicht lösliche barythaltige Masse, welche beim Erhitzen mit Kaliumbisulfat Dämpfe entwickelte, deren Geruch demjenigen des Acroleins glich und beim Verbrennen eine phosphorsäurereiche Asche lieferte. Die davon abfiltrirte weingeistige Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in Alkohol aufgenommen, die filtrirte Flüssigkeit wieder eingedunstet. Den nun erhaltenen Verdampfungsrückstand lösten wir in Wasser und setzten der Lösung ein wenig Salzsäure zu. Dabei entstand eine an Menge nur geringe Ausscheidung (Fettsäure?); die von letzterer durch Filtration getrennte Lösung wurde wieder eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in absolutem Alkohol gelöst, die Lösung mit einer alkoholischen Platinchloridsolution versetzt. Dabei entstand ein sehr starker Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit Weingeist gewaschen, dann in Wasser gelöst wurde; die Lösung lieferte beim langsamen Verdunsten orange-rothe tafelartige Krystalle, die in ihrem Aussehen vollständig mit den unter gleichen Bedingungen sich bildenden Cholinplatinchloridkrystallen übereinstimmten. Der Platingehalt der bei 100—105° getrockneten Krystalle entsprach dem von der Formel des Cholinplatinchlorids geforderten Werte (31,6% Pt), wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

1. 0,3020 g Substanz gaben 0,0950 g = 31,46% Pt
2. 0,3025 » » » 0,0953 » = 31,50% »

Bei der Zerlegung mittels Schwefelwasserstoff lieferte dieses Platindoppelsalz ein in zerfließlichen Nadeln krystallisierendes, in Weingeist leicht lösliches Chlorhydrat. Die wässrige Lösung desselben gab folgende Reaktionen:

Mit Phosphorwolframsäure	weiße	Fällung
» Phosphormolybdänsäure	gelbliche	»
» Jod-Jodkalium	braune	»
» Kaliumquecksilberjodid	gelbe	»
» Kaliumwismuthjodid	rote	»
» Gerbsäure	—	
» Goldchlorid	gelbe	krystallinische Fällung, löslich in heißem Wasser.

Die gleichen Reaktionen gibt bekanntlich das salzsaure Cholin.

Schließlich wurde noch eine Goldbestimmung in dem Gold-doppelsalz der Base ausgeführt. Dabei erhielten wir ein Resultat, das mit dem von der Formel des Cholingoldchlorids geforderten Werte (44,5% Au) entspricht, wie folgende Angaben beweisen:

$$0,1310 \text{ g Substanz gaben } 0,0580 \text{ g} = 44,27 \% \text{ Au.}$$

Diese Versuchsergebnisse beweisen, daß die beim Kochen unseres Präparates erhaltene Base Cholin war. Was die neben Cholin noch entstandenen Produkte betrifft, so wurde oben schon erwähnt, daß wir unlösliche Barytseifen erhielten; bei der Zerlegung durch verdünnten Salzsäure lieferten dieselben ein Produkt, welches nach seinem Aussehen und seinem Verhalten für ein Gemenge von Fettsäuren erklärt werden konnte. Der in Weingeist unlösliche Teil des Verdampfungsrückstandes der von den Barytseifen abfiltrierten Flüssigkeit zeigte nach den oben schon gemachten Angaben ein Verhalten, welches mit der Annahme, daß glyzerinphosphorsaures Baryum vorlag, übereinstimmte; doch war noch ein anderes Baryumsalz beigemengt. Als das Gemenge der Baryumsalze mittels Schwefelsäure vom Baryum befreit, die vom Baryumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit sodann mit Äther ausgeschüttelt wurde, ging in den Äther eine Säure über. Der beim Verdunsten der ätherischen Lösung verbleibende Rückstand reagierte sauer; auf Zusatz von Wasser schieden sich ölige Tropfen aus. Es ist möglich, daß hier eine Fettsäure vorlag, die mit Baryt ein wasserlösliches Salz gegeben hatte; doch schien ihre Quantität nicht bedeutend zu sein.

Wie aus den im vorigen gemachten Angaben zu ersehen ist, haben wir das Rohlecithin, dargestellt nach den von E. Schulze und A. Likiernik angegebenen Verfahren, in drei Präparate zerlegt; als viertes kommt noch hinzu das mit Hilfe von Chlorcadmium aus dem Ätherextrakt der Samen isolierte Präparat. Von diesen vier Produkten haben wir bis jetzt nur eines eingehender untersucht, nämlich das in Weingeist sehr wenig lösliche Produkt, welches beim Auflösen des Rohlecithins als Rückstand blieb. Die bei Untersuchung dieses Produktes erhaltenen Resultate teilen wir im folgenden mit:

**Untersuchung des in Weingeist sehr schwer löslichen Teils
des Rohlecithins.**

Wie oben erwähnt worden ist, beobachteten schon E. Schulze und A. Likiernik, daß beim Auflösen des Rohlecithins in heißem Weingeist ein Rückstand blieb. Da dieser Rückstand in Äther leicht löslich war und 3,9% Phosphor enthielt, so lag es nahe, zu vermuten, daß er aus einem «Lecithan» von eigentümlicher Beschaffenheit bestehe. Für eine solche Annahme sprechen auch die Resultate der ersten Versuche, die wir mit jenem Teil unseres Rohlecithins angestellt haben. Für diese Versuche benutzten wir ein aus Lupinensamen dargestelltes und in der oben schon beschriebenen Weise behandeltes Präparat. Der Phosphorgehalt dieses Präparates lag demjenigen des Distearyl- oder Dioleyl-Lecithins nahe, wie folgende Angaben beweisen:

0,500 g bei 100° getrocknete Substanz gaben 0,0684 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,01821 g oder = 3,64% P.

Ferner ließ sich nachweisen, daß dieses Präparat bei der Spaltung durch Barytwasser Cholin lieferte. Der bezügliche Versuch wurde in der oben beschriebenen Weise ausgeführt, das Cholin aber in das Golddoppelsalz übergeführt. Der Goldgehalt dieses Doppelsalzes entsprach dem von der Formel des Cholingoldchlorids geforderten Werte, wie folgende Angaben beweisen:

0,2320 g bei 100° getrocknete Substanz gaben 0,1030 g = 44,40% Au (die Theorie verlangt 44,5% Au).

Neben Cholin entstanden beim Kochen unseres Präparates mit Barytwasser in Wasser unlösliche Barytseifen, die bei der Zerlegung durch Salzsäure ein Gemenge fester Fettsäuren lieferten, sowie ein in Wasser leicht lösliches Baryumsalz, welches gleich dem glyzerinphosphorsauren Baryum beim Verbrennen einen phosphorsäurereichen Rückstand gab.

Sodann ist zu erwähnen, daß nach einem im Institut für experimentelle Medizin in Frankfurt a. M. angestellten Versuche durch unser Präparat Schlangengift aktiviert wurde, wie durch tierisches Lecithin.¹⁾

¹⁾ Nach einer gefälligen brieflichen Mitteilung des Herrn Geheimrats Ehrlich, dem wir einen Teil unseres Präparates gesendet hatten.

Lassen diese Versuchsergebnisse keinen Zweifel darüber, daß in dem beschriebenen Produkt Lecithin enthalten war, so machen doch die bei Fortführung der Untersuchung erhaltenen Resultate es fraglich, ob dieses Produkt eine einheitliche Substanz war. Denn es zeigten sich im Phosphorgehalt der verschiedenen Präparate dieses Produktes beträchtliche Schwankungen. Zum Beweise teilen wir zunächst die Zahlen mit, die wir bei Analyse von 2 aus den Samen von *Lupinus luteus* und *Vicia sativa* dargestellten Präparaten erhielten:

a) Präparat aus *Lupinus luteus*.

1. 0,4602 g Substanz gaben 0,055 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0153$ g oder = 3,33 % P.

2. 0,5086 g Substanz gaben 0,0577 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,01601$ g oder = 3,16 % P.

Mittel = 3,25 % P.

b) Präparat aus *Vicia sativa*.

0,2527 g Substanz gaben 0,0282 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,00783$ g oder = 3,10 % P.

Diese Präparate enthielten also 3,10—3,25 % P, während das Präparat, mit welchem wir die ersten Versuche anstellten, einen Phosphorgehalt von 3,64 % besaß.

Noch niedriger war der Phosphorgehalt bei einem aus den Samen von *Lupinus albus* dargestellten Präparat, welches nach der Trennung von dem in Weingeist leicht löslichen Teile des Rohlecithins zur Reinigung noch mit einer relativ großen Weingeistmenge (300 ccm auf ca. 10 g des Präparates) ausgekocht, dann abfiltriert und wieder in geeigneter Weise getrocknet worden war. Die Analyse gab folgende Zahlen:

1. 0,300 g Substanz gaben 0,0309 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,00859$ g oder = 2,87 % P.

2. 0,411 g Substanz gaben 0,0422 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,01174$ g oder = 2,86 % P.

In diesem Präparat bestimmten wir auch den Stickstoff; dabei ergab sich eine Zahl, welche hinter dem Stickstoffgehalt des Distearyl- oder Dioleyllecithins (1,73—1,74 % N) bedeutend zurückbleibt, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

0,5185 g Substanz gaben 4,5 ccm feuchtes Stickstoffgas bei 13° C. und 720 mm Quecksilberdruck = 0,00492 g oder 0,95 % N.

Ungefähr die gleiche Stickstoffmenge wurde in dem aus den Samen von *Vicia sativa* dargestellten Präparat, welches 3,1⁰/₁₀₀ P enthielt, gefunden:¹⁾

0,3752 g Substanz gaben 3,4 ccm feuchtes Stickstoffgas bei 15° C. und 728 mm Quecksilberdruck = 0,003924 g oder 1,05⁰/₁₀₀ N.

Von dem aus dem Samen von *Lupinus albus* dargestellten Präparat wurden 4 g durch Barytwasser gespalten, und zwar in der Weise, daß diese 4 g in Äther gelöst und sodann mit Barytwasser (20 g krystallisiertes Baryumhydroxyd und 200 ccm Wasser) zwei Stunden lang gekocht wurden; die Flüssigkeit wurde sodann in der oben schon angegebenen Weise verarbeitet. Dabei erhielten wir nur eine sehr kleine Menge von Cholin. Letzteres wurde in das Platindoppelsalz übergeführt. Das Gewicht dieses Doppelsalzes betrug weniger als 0,1 g.²⁾ Es krystallisierte aus Wasser in der gewöhnlichen Form. Das daraus dargestellte Chlorhydrat gab die Reaktionen des salzsauren Cholins. Neben dieser Base wurden ein Baryumsalz, welches nach seinem Verhalten glyzerinphosphorsaures Baryum sein konnte, und unlösliche Barytseifen erhalten; die bei Zerlegung der letzteren mittels Salzsäure entstandenen Fettsäuren hatten ein Gewicht von 1,84 g. Bemerkenswert ist, daß die von diesen Fettsäuren abfiltrierte salzsaure Flüssigkeit starke Phosphorsäurereaktion gab.

Die im vorigen mitgeteilten Versuchsergebnisse zeigen, daß die von uns dargestellten Präparate keine konstante Zusammensetzung besaßen; sie können daneben auch die Vermutung erwecken, daß der in Weingeist schwer lösliche Teil des Rohlecithins bei der Behandlung mit Alkohol seine Zusammensetzung veränderte und also langsam zersetzt wurde. Zu einer solchen Vermutung können insbesondere die Resultate führen,

¹⁾ Ein weit höherer Stickstoffgehalt fand sich auffallenderweise in einem Präparat aus Samen von *Lupinus luteus*. Dieses Präparat enthielt im Mittel aus 2 Bestimmungen 3,7⁰/₁₀₀ N.

²⁾ Die vom Platindoppelsalz abfiltrierte Flüssigkeit gab, nachdem sie von Weingeist und von Platin befreit worden war, mit Phosphorwolframsäure nur eine schwache Fällung. Es schien also neben Cholin eine andere Base nicht vorhanden zu sein.

die bei Untersuchung des zur Reinigung noch einmal mit Alkohol ausgekochten Präparates aus den Samen von *Lupinus albus* erhalten wurden, sowie auch einige Beobachtungen, die wir an dem für die ersten Versuche verwendeten Präparat (mit einem Phosphorgehalt von 3,64%) machten. Dieses Präparat wurde, nachdem es einige Monate lang aufbewahrt worden war, noch einmal mit Alkohol extrahiert, das ungelöst Gebliebene sodann wieder getrocknet und analysiert. Dabei erhielten wir folgende Zahlen:

1. 0,3122 g Substanz gaben 0,0350 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 0,00934 g oder = 3,11% P.

2. 0,5300 g Substanz gaben 0,0630 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 0,017595 g oder = 3,32% P.

Der Phosphorgehalt wurde also im Mittel = 3,22% gefunden, während die Phosphorbestimmung in dem ursprünglichen Material 3,64% ergeben hatte.

Wir haben auch noch die alkoholische Lösung untersucht, welche beim Auskochen von ca. 10 g des aus *Lupinus albus* dargestellten Präparates mit 300 ccm absoluten Alkohols resultierte. Diese Lösung setzte beim Erkalten weiße Flocken ab, welche abfiltriert und getrocknet wurden. Die Zusammensetzung dieses, freilich nur in sehr geringer Menge, erhaltenen Produktes wich von derjenigen des Lecithins sehr stark ab, denn wir fanden darin 9,94% P und 0,24% N.¹⁾ Die von diesem Produkt abfiltrierte alkoholische Lösung wurde eingedunstet; der Verdampfungsrückstand, dessen Gewicht 2,5 g betrug, enthielt 2,9% P.²⁾

Wie aus den im vorigen gemachten Mitteilungen sich ersehen läßt, ist es uns bis jetzt nicht gelungen, aus dem in Weingeist sehr schwer löslichen Teile des Rohlecithins Präparate von konstanter Zusammensetzung zu gewinnen. Es muß für möglich erklärt werden, daß dieser Rückstand eine Verbindung

¹⁾ Analytische Belege: a) 0,3470 g Substanz gaben 0,1240 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 0,0344 g P. b) 0,5030 g Substanz gaben 1,1 ccm feuchtes Stickstoffgas bei 18° C. und 720 mm Druck = 0,00121 g N.

²⁾ Analytische Belege: 0,174 g Substanz gaben 0,0182 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 0,00505 g P.

von Lecithin mit einem anderen Körper war. Vielleicht war auch dieser andere Körper phosphorhaltig; dahin können das Vorhandensein von Phosphorsäure in der bei Zerlegung der Barytseifen mit Salzsäure erhaltenen Flüssigkeit,¹⁾ sowie der hohe Phosphorgehalt der aus der alkoholischen Lösung beim Abkühlen ausgeschiedenen Flocken (vgl. die oben gemachte Angabe) deuten. Daß jener in Weingeist sehr schwer lösliche, in Äther dagegen leicht lösliche Rückstand des Rohlecithins bei der Behandlung mit Alkohol seine Zusammensetzung veränderte, ist wahrscheinlich, wenn es auch nicht als sicher bewiesen hingestellt werden kann.

Über das Verhalten des Lecithins in den keimenden Samen.

In den in unserem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen über das pflanzliche Lecithin ist auch das Schicksal dieses Samenbestandteils während des Keimungsvorganges und während der Entwicklung der Keimpflänzchen berücksichtigt worden. Die dabei erhaltenen Resultate stellen wir hier, obwohl neue Versuche über diesen Gegenstand uns nicht vorliegen, in aller Kürze zusammen, weil sie in einer vor kurzem von anderer Seite gemachten Publikation nur teilweise berücksichtigt worden sind. Daß in Keimpflanzen, die sich im Dunkeln entwickeln, das Lecithin dem Verbrauch unterliegt, haben zuerst E. Schulze und E. Steiger²⁾ beobachtet; sie fanden in 100 Teilen ungekeimter entschälter Samen von *Lupinus luteus* 2,10 Teile Lecithin, in den daraus entstandenen 14tägigen Keimpflanzen (mit 78,7 Teilen wasserfreier Substanz) nur 0,44 Teile Lecithin; also waren 1,66 Teile verbraucht worden. In 4wöchentlichen etiolierten Keimpflanzen von *Vicia sativa* fand E. Schulze³⁾ nur noch 0,19% Lecithin, während die ungekeimten Samen 0,74% dieser Substanz enthalten hatten. Die aus diesen Zahlen sich ableitenden Schlußfolgerungen fanden eine Bestätigung durch die in unserem Laboratorium von

1) Vielleicht war aber etwas Glycerinphosphorsäure gespalten worden.

2) Landwirtschaftliche Versuchsstationen, Bd. 36, S. 415.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 207.

Prianischnikow¹⁾ an *Vicia sativa* und von M. Merlis²⁾ an *Lupinus angustifolius* ausgeführten Versuche. Bei *Vicia sativa* konstatierte auch Iwanoff³⁾ ein starkes Abnehmen der Lecithinmenge während der Entwicklung der Keimpflanzen.

Bei Ausführung dieser Untersuchungen ist der Lecithin-gehalt der Versuchsubjekte aus dem Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extrakte berechnet worden. Dieses Verfahren beruht, wie weiter oben dargelegt worden ist, nicht auf einer ganz sicheren Grundlage und ist also mit Mängeln behaftet. Die Differenzen, welche zwischen dem Lecithin-gehalt der ungekeimten Samen und demjenigen der etiolierten Keimpflanzen hervortraten, sind aber so groß, daß sie nicht auf Versuchsfehler zurückgeführt werden können. Trotz der Mängel, mit denen die angewendete Bestimmungsmethode behaftet ist, kann es demnach doch für sicher erklärt werden, daß in den unter Lichtabschluß sich entwickelnden Leguminosenkeimpflanzen das Lecithin der Zersetzung anheimfällt. Daß man zu diesem Resultat gelangen werde, konnte von vornherein für wahrscheinlich erklärt werden. In den im Dunkel sich entwickelnden Keimpflanzen, die sich gewissermaßen im Hungerzustande befinden, überwiegen die Prozesse der regressiven Stoffmetamorphose. Daß in solchen Keimpflanzen nicht nur Eiweißstoffe, Kohlenhydrate und Fette, sondern auch Lecithine zersetzt werden, ist leicht verständlich. Man darf vermuten, daß in den Pflanzen die Lecithine, ebenso wie im Tierkörper, durch Enzyme gespalten werden und daß dabei Cholin sich bildet. In Übereinstimmung mit der letzteren Annahme steht die Tatsache, daß man aus etiolierten Leguminosenkeimpflanzen Cholin in beträchtlicher Menge isolieren kann. Allerdings enthalten schon die ungekeimten Samen Cholin, doch ist die Quantität hier nur gering. Wahrscheinlich wird man das Zunehmen des Cholins in den unter Lichtabschluß sich entwickelnden Keimpflanzen leicht experimentell nachweisen können. Bei Fort-

¹⁾ Landwirtschaftliche Versuchsstationen, Bd. 45, S. 247.

²⁾ Ibid., Bd. 48, S. 419.

³⁾ Vergl. die später zitierte Abhandlung Iwanoffs.

führung unserer Versuche gedenken wir sowohl diesen Punkt wie auch die Frage, ob die Lecithine in den Pflanzen durch Enzyme zersetzt werden, zu berücksichtigen.

Bei *Helianthus annuus* fand S. Frankfurt¹⁾ in etiolierten Keimpflanzen mehr Lecithin als in den ungekeimten Samen. Während 100 Teile der entschälten ungekeimten Samen 0,44 Teile Lecithin enthielten, fanden sich in den daraus entstandenen Keimpflanzen (mit 89 Teilen wasserfreier Substanz) dagegen 0,71 Teile Lecithin vor. Ob der hohe Fettgehalt der Helianthussamen einen Einfluß ausübte oder ob etwa hier neben Lecithin ein anderer in Äther löslicher phosphorhaltiger Körper, dessen Anwesenheit die Lecithinbestimmung unsicher machte, sich vorfand, konnte nicht entschieden werden.

W. Zaleski²⁾ und Iwanoff³⁾ haben aus ihren Untersuchungen den Schluß gezogen, daß in den unter Lichtabschluß sich entwickelnden Leguminosenkeimpflanzen neben den Lecithinen auch andere organische Phosphorverbindungen eine starke Zersetzung erleiden. Bei *Vicia sativa* fallen nach den Angaben Iwanoffs von 100 Teilen des gesamten Phosphors in den ungekeimten Samen auf anorganische Phosphate 11,4 Teile, in dreiwöchentlichen Keimpflanzen dagegen 80,2 Teile, in vierwöchentlichen Keimpflanzen sogar 93,7 Teile. Von einer in so starkem Maße erfolgenden Überführung des Phosphors aus organischen in anorganische Verbindungen muß neben dem Lecithin wohl auch die in der nachfolgenden Abhandlung von uns erwähnte gepaarte Phosphorsäure, welche bei der Spaltung Inosit liefert, betroffen werden; denn nach den Angaben Posternaks⁴⁾ gehört in den Pflanzensamen ein sehr großer Teil des gesamten Phosphors dieser gepaarten Phosphorsäure an.

In Keimpflanzen, die sich am Lichte entwickeln und ergrünt sind, erfolgt nach Versuchen von W. Maxwell⁵⁾ und

¹⁾ Landwirtschaftliche Versuchsstationen, Bd. 43, S. 175.

²⁾ Berichte der deutsch. botan. Ges., Bd. 20 (1902), S. 426.

³⁾ Journal für experimentelle Landwirtschaft (russisch) 1902, Heft 1.

Wir entnehmen dieses Zitat der Abhandlung Zaleskis.

⁴⁾ Comptes rendus, T. CXXXVII, S. 202.

⁵⁾ Amerik. Chem. Journ. 1891, Bd. 13, S. 16.

I. Stoklasa¹⁾ eine Zunahme des Lecithingehaltes. Maxwell experimentierte mit Keimpflanzen der Schnittbohne (*Phaseolus vulgaris*), des Mais (*Zea Mais*) und der Baumwollstaude (*Gossypium*); die von ihm untersuchten Keimpflanzen enthielten nach längerem Wachstum zwei- bis dreimal so viel Lecithin als die ungekeimten Samen, aus denen die Pflänzchen entstanden waren. Stoklasa fand noch, daß bei der Roßkastanie und bei der Esche vollständig entwickelte Blätter in der Trockensubstanz doppelt so viel Lecithin enthielten als die Blattknospen und daß beim Hafer und bei Rüben das sich bildende Lecithinquantum in den Blättern bei vollständiger Entwicklung der Assimilationstätigkeit sein Maximum erreichte, woraus zu folgen scheint, daß das Lecithin sich mit der Bildung der Chlorophyllkörner vermehrt. Auch in diesen Fällen wurde der Lecithingehalt der Versuchsobjekte aus dem Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extrakte berechnet.

Es wird sich empfehlen, manche der im vorigen besprochenen Bestimmungen zu wiederholen, nachdem unsere Kenntnisse über die in den Pflanzen enthaltenen organischen Phosphorverbindungen durch neue Untersuchungen vervollständigt worden sind. Man wird u. a. zu prüfen haben, ob nicht die Anwesenheit der oben erwähnten gepaarten Phosphorsäure die quantitative Bestimmung der anorganischen Phosphate in einer Pflanzensubstanz bedeutend erschwert.

¹⁾ loc. cit., sowie Bull. Soc. Chim. Paris [³], Bd. 17, S. 520.