

Untersuchungen über die lecithinartigen Substanzen des Myocardiums und der quergestreiften Muskeln.

Von

Dr. med. **A. Erlandsen.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. Januar 1907.)

Einleitung.

Trotz des bedeutenden Interesses, das heutzutage den lecithinartigen Substanzen zuteil wird, ist die Kenntnis von den chemischen Verhältnissen dieser zweifellos wichtigen Substanzen in den letzten Jahren nicht wesentlich erweitert worden. Jedoch sind andererseits von verschiedenen Seiten Mitteilungen erschienen, welche darauf deuten, daß die Frage bedeutend komplizierter ist, als man früher annahm, und zur erneuten Untersuchung dieser Frage auffordern.

Ohne hier auf eine detaillierte Darlegung der Geschichte der Lecithinforschung einzugehen, skizziere ich in großen Zügen die von derselben durchgemachten Phasen, seitdem das Interesse für die Chemie des Zentralnervensystems ungefähr zu Anfang des vorigen Jahrhunderts die Physiologen mit den lecithinartigen Substanzen in Berührung brachte. Namentlich stellten die französischen Forscher Fourcroy,¹⁾ Vauquelin,²⁾ Couërbe³⁾ und Frémy⁴⁾ die Chemie der phosphorhaltigen, fettähnlichen Substanzen unter Debatte; aber obwohl ihre Arbeiten für spätere Untersucher von Bedeutung waren, schufen sie doch keine sonderliche Klarheit in der Frage. Dahingegen gelang es Goble⁵⁾

¹⁾ Annales de chimie, 1793, S. 282.

²⁾ Annales de chimie, T. LXXXI, S. 37.

³⁾ Comptes rendues, T. X (1840), S. 974.

⁴⁾ Journ. de Pharmacie, T. XXVII, S. 453.

⁵⁾ Journ. de Pharm. et de Chimie, 1846, S. 1, 81, 161.

der Frage näher zu kommen, indem er den Hühnereidotter als Untersuchungssubstrat benutzte und dadurch die Sache wesentlich vereinfachte. Goble¹⁾ wurde daher auch der eigentliche Begründer des Lecithinbegriffs, indem es ihm durch eine Reihe Untersuchungen (verschiedener Organe) gelang, eine P- und N-haltige Substanz weicher, plastischer Konsistenz herzustellen und zu charakterisieren, welche sich mit Wasser emulgieren ließ, in Äther und Alkohol löslich war und, mit organischen Säuren oder Alkalien behandelt, in Fettsäuren und Glycerinphosphorsäure gespalten wurde. Diese Substanz nannte er Lecithin, erkannte jedoch selbst an, es sei ihm niemals gelungen, sie von fremden Beimischungen und besonders von Fett zu befreien, so daß er ihre Zusammensetzung nicht genau anzugeben vermochte. Indessen blieben seine Untersuchungen recht unbeachtet, weil Liebreich²⁾ einige Jahre später in einer Abhandlung über die chemische Beschaffenheit der Gehirns substanz vollständig die Richtigkeit der Gobleyschen Behauptungen bestritt, indem er dessen Lecithin zu einem Spaltungsprodukt des im Organismus primär vorkommenden Stoffes Protagon reduzierte. Diese Substanz, welche er durch behutsame Alkoholextraktion der Gehirns substanz gewann, gab bei Spaltung außer den von Goble für Lecithin angegebenen Spaltungsprodukten eine N-haltige, basische Substanz, welche Liebreich Neurin nannte. Die Unrichtigkeit der Liebreichschen allzuweitgehenden und einseitigen Behauptungen wurde aber — ganz abgesehen von der Frage über die chemische Individualität des Protagon — bald vollständig von verschiedenen Seiten bewiesen. H. Köhler³⁾ wies nach, daß er bei Entwässerung des Gehirns mit Alkohol und nachfolgender Extraktion mit kaltem Äther N- und P-haltige Substanzen extrahieren konnte, welche vom Protagon ganz verschieden waren. Diese Substanzen, die er Myeloidin und Myeloidinsäure benannte, wurden durch

¹⁾ Journ. de Pharm. et de Chimie, T. XI, S. 409; T. XII, S. 5; T. XVII, S. 401, T. XVIII, S. 107.

²⁾ Annales de Chim. et Pharm., Bd. CXXXIV, S. 29.

³⁾ Chem. Untersuchungen über die fälschlich Hirnfette genannten Substanzen, Halle 1868, und Virchows Archiv, Bd. XLI, S. 265.

Fällung mit Bleizucker gereinigt und analysiert, wobei sich das Verhältnis N:P in den Verbindungen als resp. 1:1 und 2:1 ergab, während es in Liebreichs Protagon eher 4:1 war.

Andererseits wiesen Hoppe-Seyler¹⁾ und dessen Schüler durch eine Reihe Untersuchungen nach, daß Liebreichs Behauptungen ebenfalls keine Allgemeingültigkeit hätten, wenn die Untersuchung anderen organischen Substraten galt. Parke²⁾ vermochte derart festzustellen, daß es neben dem Protagon allenfalls andere weit phosphorreichere Substanzen im Organismus geben müßte. Der Glaube an die dominierende Rolle des Protagons wurde ferner durch die von Diakonow³⁾ kurze Zeit darauf aus Hoppe-Seylers Laboratorium in Tübingen veröffentlichten Abhandlungen erschüttert. Diese konstatierten im Gegensatz zu Liebreich, daß Phosphorbestimmungen in Extrakten tierischer Organe nicht zum Beweise der Existenz oder zur Berechnung der Menge des Protagons genügten. Gleichzeitig veröffentlichte Diakonow seine bekannte Methode zur Reindarstellung des «Lecithins» — so wie er nun nach Gobley die aus Hühnereidotter hergestellte, eigentümliche P- und N-haltige Substanz benannte. Mittels der Diakonowschen Methode gelang es zum erstenmal, einen geringeren Teil der lecithinartigen Substanzen des Eidotters im gereinigten Zustand zu gewinnen, und diese Fraktion — das sogenannte Lecithin — zeigte eine Zusammensetzung, welche zur Formel $C_{44}H_{90}NPO_9 + aq$ leitete, und nach Verseifung als einzigste Spaltungsprodukte Glycerinphosphorsäure, Stearinsäure und Cholin ergab. Einen ähnlichen Stoff stellte Diakonow kurze Zeit darauf auf analoge Weise aus dem Gehirn her, wodurch er Liebreichs Protagonlehre in ein äußerst zweifelhaftes Licht stellte.

Diakonows Auffassung der Zusammensetzung des Protagons wurde wohl durch Streckers⁴⁾ kurz darauf veröffentlichte, bedeutungsvolle Untersuchungen korrigiert; aber diese

¹⁾ Hoppe-Seyler, Med.-Chem. Untersuchungen, 1867, S. 217.

²⁾ Hoppe-Seyler, Med.-Chem. Untersuchungen, 1867, S. 209.

³⁾ Ibidem, 1867, S. 221; Hermanns Zentralbl. f. die med. Wissensch., 1868, S. 1, 434, und 1868, S. 97.

⁴⁾ Annalen der Chemie u. Pharmacie, Bd. CXLVIII, S. 77.

waren gleichzeitig für die Hoppe-Seyler—Diakonowsche Lecithinlehre eine Stütze, welche das Verlassen der Protagonlehre befürwortete. Streckers Arbeit wurde, durch seinen Nachweis der Fähigkeit des Lecithins, mit gewissen Metallsalzen schwerlösliche Verbindungen einzugehen, für die Auffassung der chemischen Konstitution des Lecithins grundlegend. Während Diakonow das Lecithin für eine salzartige Verbindung ansah, deuteten Streckers Untersuchungen darauf, daß es sich um eine Esterverbindung zwischen Cholin und der substituierten Glycerinphosphorsäure handelte. Dieser Auffassung sind später Hundeshagen¹⁾ und Gilson²⁾ beigetreten. Er wies ferner unter den Spaltungsprodukten des Lecithins außer Stearinsäure andere Fettsäuren nach — darunter auch Ölsäure. Strecker gab, teilweise auf Basis der Spaltungsprodukte, die Formel des Lecithins auf $C_{42}H_{84}NPO_9$ an.

Diakonow³⁾ beantwortete Streckers Einwendungen in einer Abhandlung, die er wenige Wochen vor seinem Tode veröffentlichte. Er konnte Streckers Auffassung der Konstitution des Lecithins aus verschiedenen Gründen nicht beistimmen, erkannte jedoch an, daß es mehrere Lecithine geben müßte, welche sich von einander durch die Art der enthaltenen Fettsäureradikale unterschieden.

Hiermit schließt ein bedeutungsvoller Abschnitt der Geschichte der Lecithinuntersuchungen. Die folgenden Jahre brachten wenig Neues. Die Frage über die Konstitution des Lecithins wurde als erledigt angesehen. Die Hoppe-Seyler—Diakonowsche Methode wurde als Lecithindarstellungsmethode adoptiert; zum Nachweis von Lecithin in Geweben und Flüssigkeiten der Tier- und Pflanzenorganismen begnügte man sich damit, deren Spaltungsprodukte nach Verseifung der äther-alkoholischen Extrakte nachzuweisen, und eine quantitative P-Bestimmung in diesen Extrakten genügte zur Bestimmung der Lecithinmenge, indem man diese als Distearinlecithin berechnete [8,798% P_2O_5]

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem., 1883, S. 219.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 585.

³⁾ Hoppe-Seyler, Mediz.-Chem. Untersuchungen, 1868, S. 405.

[Chevalier,¹⁾ Gilson,²⁾ Schulze,³⁾ Jacobson,⁴⁾ Schulze und Steiger,⁵⁾ Schulze und Likiernik,⁶⁾ Manasse.⁷⁾] Die Berechtigung hierzu wurde erst bedeutend später unter Diskussion gestellt, und sie ist so wenig beendet, daß man diese Berechnungsweise bis auf die neueste Zeit ohne Änderungen und nur gelegentlich mit einiger Reservation angeführt und angewendet findet, obwohl sie auf der Voraussetzung beruht, daß das Lecithin in den Extrakten nicht gemischt mit anderen phosphorhaltigen Substanzen vorgefunden wird. Und doch wurde in dieser Periode Liebreichs Protagon zu erneuten Untersuchungen aufgenommen [Gamgee und Blankenhorn,⁸⁾ Baumstark,⁹⁾ Kossel und Freitag,¹⁰⁾ Ruppel¹¹⁾] und teilweise wieder anerkannt, trotz der Verwerfung seitens der Tübinger Schule und trotz der eingehenden Experimentalkritik, welcher Thudichum¹²⁾ diese Substanz unterwarf. Außerdem wurde eine andere Substanz, das Drechsel-Baldische Jecorin, nachgewiesen, welche auf die Berechnung der Lecithinmenge störend einwirken konnte. In der letzten Zeit hat die Forschung wiederum begonnen, sich mit dem Lecithin zu beschäftigen. Heffter¹³⁾ suchte in Erkenntnis der Mängel bei der oben besprochenen quantitativen Lecithinbestimmungsmethode, vergebens diese mit einer quantitativen Bestimmung des Cholins nach Verseifung des Lecithins mit Barytwasser auszustatten; jedoch hob er gleichzeitig mit Nachdruck hervor, daß das primäre Äther-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 585.

2) Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 97.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 32.

4) Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 365.

5) Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 365.

6) Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 405.

7) Diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 437.

8) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 260.

9) Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 145.

10) Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 264.

11) Z. d. Biologie, 1895, S. 86.

12) Reports of the Medic. Off. of the Privy Council and Local Government Board 1874, S. 113, 1876, S. 117. — Proceed. Royal Soc. XXX, S. 278; XXXI, S. 283.

13) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm., 1891, S. 97.

extrakt, welches frühere Untersucher gewöhnlich als Fett berechnet hatten, bedeutende Mengen Lecithin enthielte, die bei quantitativen Lecithinbestimmungen in Betracht zu ziehen seien. Einige Jahre später gelang es Zuelzer¹⁾ auch dies in dem primären Ätherextrakt vorhandene Lecithin für Untersuchungen zugänglich zu machen, indem er als Scheidungsmittel der Fettstoffe und der lecithinartigen Stoffe Aceton einführte. Zuelzer kam außerdem durch seine Untersuchungen des Ochsengehirns zu dem schon von Thudichum lange vorher erzielten Resultat, daß sich in dem Gehirn phosphorhaltige, ätherlösliche Substanzen vorfinden, welche sowohl von dem sogenannten Lecithin wie auch von dem Protagon verschieden sind.

Der Stoß, der hierdurch (sowie durch Thudichums wenig zugängliche Arbeiten) gegen die klassische Lecithinauffassung gerichtet war, hat aber nicht spätere Untersucher darin gehindert, ausschließlich mit einem Lecithin zu rechnen. U. a. beruht Bergells²⁾ Lecithindarstellung auf dieser Idee, obwohl sein Darstellungsverfahren weder ganz konstante Produkte ergibt, noch annähernd quantitativ ist.

Das Prinzip, das der Bergellschen Methode zugrunde liegt, und welches Streckers Beobachtungen der Fähigkeit des Cadmiumchlorids, schwerlösliche Additionsprodukte mit den lecithinartigen Substanzen zu bilden, zuzuschreiben ist, hat indessen dadurch bedeutend erhöhtes Interesse erhalten, daß dasselbe Prinzip auch den umfassenden Studien zugrunde gelegt ist, welche Thudichum³⁾ auf diesem Gebiet ausgeführt und deren Resultate er in seiner umfassenden Arbeit über die chemische Konstitution des Gehirns niedergelegt hat. Diese Arbeit, auf welche man jeden verweisen muß, der sich mit diesen Fragen zu beschäftigen wünscht, nimmt sowohl betreffs ihrer Form wie auch betreffs ihres Inhalts unter den hierhin gehörenden Arbeiten eine Sonderstellung ein. Das vollständige, allseitige Übersehen der Thudichumschen Untersuchungen hat sein

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 255.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXXIII, S. 2584.

³⁾ Die chemische Konstitution des Gehirns d. Menschen und der Tiere, Tübingen 1901.

Hauptwerk zu einer Anklageschrift gestaltet, deren Bitterkeit und Unbeherrschtheit wohl kaum von einer wissenschaftlichen Polemik übertroffen ist. Trotz der Ungerechtigkeit gegen etliche betreffs dieser Frage verdiente Forscher enthalten Thudichums Untersuchungen so viele interessante Beobachtungen und neue Gesichtspunkte, daß es bei zukünftigen Untersuchungen unverantwortlich sein würde, diese nicht zu berücksichtigen. Ganz abgesehen von Thudichums Kritik des Protagonen und der damit verknüpften Untersuchungen über die phosphorfreen Gehirnsstanzen (Cerebroside, Cerebrinacide, Amidolipolide usw.) hat diese Arbeit eine neue Basis für die Lecithinforschung geschaffen und eine Revision der geltenden Auffassung des Lecithins unabweisbar gemacht. Es ist hier nicht der Platz zur Aufrechnung und kritischen Besprechung der verschiedenen phosphorhaltigen Stoffe, die Thudichum aus dem Gehirn isoliert zu haben meint, und welchen er den gemeinsamen Namen: «Phosphatide» gegeben hat. Dahingegen ist hervorzuheben, daß er festgestellt hat, daß sich im Organismus außer den einstickstoffhaltigen Phosphatiden ($N:P = 1:1$), worunter Lecithin, andere lecithinartige Stoffe vorfinden, in denen das Verhältnis zwischen N und P ein anderes einfaches Verhältnis ist ($N:P = 2:1$, $N:P = 2:2$). Thudichum hat auf die Trennung dieser Stoffe eine außerordentlich große Arbeit verwandt. Seine Trennungsmethode ist wesentlich auf eine Fällung der Phosphatide als Metallverbindungen aus dem durch eine energische Alkoholbehandlung gewonnenen Extrakt und nachfolgende Trennung der Metallverbindungen durch deren abweichende Löslichkeitsverhältnisse basiert. Thudichum hat demnach eine Trennung der Phosphatide ausschließlich nach ihrem Löslichkeitsverhältnis aufgegeben. Es ist schwer zu beurteilen, inwiefern es ihm gelungen ist, sich die Aufgabe ganz praktisch zurecht zu legen, und in seinen Resultaten, sowohl mit Rücksicht auf die Allgemeingültigkeit seiner Isolationsmethoden, wie auch mit Rücksicht auf die Auffassung der Konstitution der Phosphatide, kann ich ihm in vielen Punkten nicht beistimmen. Eins ist jedoch sicher: Es ist Thudichum zu konstatieren gelungen, daß das, was früher Lecithin genannt und nur mittels physi-

kalischer Eigenschaften, Spaltungsprodukte usw. identifiziert wurde, nicht mehr mit diesem Namen abgefertigt werden kann und darf. Er hat gezeigt, daß die auf diese klassische Annahme basierten Arbeiten unbefriedigend sind, und daß das Studium der lecithinartigen Substanzen auf eine breitere Grundlage zu stellen und namentlich auf eine mehr systematische Weise als bisher wieder aufzunehmen ist. Er hat jedoch gleichzeitig gezeigt, daß die Schwierigkeiten bei der Lösung dieser Aufgabe ganz bedeutend größer sind, als vermutet war.

Die letzten Jahre sind daher auch verstrichen, ohne daß jemand den Versuch gemacht hat, die so wünschenswerte Revision der Thudichumschen Arbeit vorzunehmen, obwohl auch von anderer Seite (Schulze und Winterstein)¹⁾ behauptet wurde, es gäbe Phosphatide, deren physikalische Verhältnisse und chemischer Bau unter einander verschieden seien. Bezüglich eines einzelnen Punktes ist eine Bekräftigung der Thudichumschen Angaben erfolgt, indem es Koch²⁾ nach einem von Thudichum abweichenden Verfahren gelang, das «Hauptphosphatid» des Gehirns, das Kephalin, herzustellen. Er ist jedoch nicht mit Thudichum über dessen Konstitution einig und blieb bei der Annahme stehen, daß alles, was frühere Verfasser als Lecithin bezeichnet haben, eine Mischung von Kephalin und Lecithin ist. Dahingegen haben Hammarstens³⁾ Untersuchungen über die phosphorhaltigen Bestandteile der Galle ergeben, daß sich auch hier außer einstickstoffhaltigen Monophosphatiden andere Phosphatide finden, welche zum Teil stickstoffreicher, zum Teil stickstoffärmer als das Lecithin sind. Blicken wir daher auf den klassischen Lecithinbegriff zurück, auf die präzise definierte Zusammensetzung des Lecithins, welche nur eine Variation der enthaltenen Säuren gestattete — so müssen wir anerkennen, daß sich die Frage nun ganz anders und bedeutend komplizierter gestaltet. Beim Studium der neueren Literatur steht man ganz ohne feste Haltepunkte, indem nicht einmal eine all-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 101.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 134.

³⁾ «Bidrag til Kännedomen om Gallans kemiska Beståndsdelar». Indbjudningsskrift. Upsala 1902.

gemein anerkannte Grundlage zur Weiterarbeit existiert. Sogar die Frage über die Fettsäuren des Lecithins ist nach neueren Untersuchungen (Henriques und Hansen,¹⁾ Cousin)²⁾ wiederum zur Debatte gebracht, und die Auffassung der Struktur des Lecithins hat geändert werden müssen, nachdem man (Ulpiani),³⁾ dessen optische Aktivität und (Willstätter und Lüdeke)⁴⁾ die optische Aktivität der enthaltenen Glycerinphosphorsäure nachgewiesen hat.

Analytische Methoden und Untersuchungstechnik.

Da es durch frühere Untersuchungen (Rubow)⁵⁾ in dem hiesigen pharmakologischen Institut nachgewiesen war, daß die Herzmuskulatur eine bedeutende Menge lecithinartiger Substanzen enthielt, und namentlich eine bedeutend größere Menge als die quergestreifte Muskulatur, so war es eine natürliche Folge, daß ich das Myocardium zum Ausgangspunkt meiner Untersuchungen benutzte. Sei auch der Gehalt an Phosphatiden in den verschiedenen Organen und Geweben sowohl qualitativ wie auch quantitativ ein verschiedener, so glaube ich doch, daß die angewendete Untersuchungsmethode und die unten angeführten allgemeinen Erfahrungen von Nutzen werden können, wenn die Frage auch bezüglich anderer Substrate zu erneuter Untersuchung aufgenommen wird. — Steht man der Frage gegenüber: Gewinnung und Trennung der verschiedenen lecithinartigen Substanzen des Herzens, so muß die Wahl des Extraktionsverfahrens auf andere Rücksichten basiert werden, als wenn es sich nur um eine quantitative Fett-Lecithin-Extraktionsmethode dreht.

Es kommt nicht allein darauf an, auf schonende Weise die Totalmenge der in dem betreffenden Gewebe enthaltenen Phosphatide zu gewinnen, sondern gleichzeitig auf die Benutzung derartiger Extraktionsmittel — und auf derartige Weise —,

¹⁾ Skandin. Arch. f. Physiologie, 1903, S. 390.

²⁾ Comptes rendus, Bd. CXXXVII, S. 68.

³⁾ Atti della Reale Accad. dei Lincei 1901. 1^o Sem., S. 368, 421.

⁴⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXXVII, S. 3753.

⁵⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm., Bd. LII, S. 173.

daß man schon bei den Extraktionen getrennte Gruppen erhalten kann, welche prinzipielle, physikalische oder chemische Abweichungen aufweisen. Die Bestrebungen, dies zu erreichen, werden in hohem Grade dadurch gehemmt, daß die Löslichkeitsverhältnisse der betreffenden Substanzen durch Beimischung anderer fettartiger Stoffe beeinflußt werden können. Diese Schwierigkeit bewirkt, daß man nicht ausschließlich nach den Lösungsverhältnissen gehen kann, ebenfalls werden fraktionierte Fällungen und Umkrystallisationen oft von geringem Wert. Die Phosphatide neigen außerdem nicht zu Krystallisation in gewöhnlichem Sinne, so daß man bei diesen Substanzen die Hilfe entbehren muß, welche sonst das Mikroskop bei ähnlichen Aufgaben zu leisten vermag. Bei der Arbeit mit diesen Stoffen sieht man wohl nicht selten, daß ein — bei langsamer Abkühlung gefällter — Niederschlag einen krystallinischen Charakter annehmen kann und unter dem Mikroskop wie ein Filz von Nadeln in knäuel- oder rosettenförmiger Anordnung aussieht. Aber einerseits habe ich dies nicht bei den reinen Stoffen gesehen, andererseits habe ich mich mittels Analysen davon überzeugt, daß derartige Krystallformen, selbst wo sie mikroskopisch ganz gleichartig waren und sich bei wiederholten Umkrystallisationen unverändert erwiesen, nicht zum Schluß auf chemische Reinheit der Substanz berechtigen. Auch Thudichum hat die Erfahrung gemacht, daß Mischungen von Stoffen, die zum Teil sehr verschieden waren, auf eine Weise krystallisierten, welche unter dem Mikroskop vollständige Homogenität vortäuschte. Da gerade die Anhänger der Protagonlehre die Krystallisation dieser Substanz in mikroskopischen Nadeln als einen Stützpunkt für die Individualität des Protagon benutzt haben, so muß ich hervorheben, wie wenig Gewicht im allgemeinen einem derartigen Befunde beizumessen ist und von wie geringem Nutzen bei diesen Untersuchungen das Mikroskop ist.

Ein mächtiges Hilfsmittel besitzen wir dahingegen in den quantitativen Analysen. Diese lehren uns nicht nur, wie weit wir allein bei der Anwendung indifferenten Lösungsmittel gelangen können, sondern geben uns außerdem Aufklärungen darüber, inwiefern die Bestrebungen zur Isolierung der ver-

schiedenen Gruppen fortschreiten, indem man seine Aufmerksamkeit auf das gegenseitige Verhältnis zwischen gewissen charakteristischen Grundstoffen der Produkte richtet.

Solange man nur an die Möglichkeit eines Lecithins glaubte, waren die quantitativen Phosphorbestimmungen allein ein guter Haltepunkt; seit Thudichums Untersuchungen müssen diese von quantitativen N-Bestimmungen immer begleitet werden, wodurch es ermöglicht wird, die Reinigungsprozesse zu verfolgen, welche zu Produkten leiten, in denen sich das Verhältnis N:P einem einfachen Wert nähert (z. B. 1:1, 1:2, 2:1). Dies erfordert natürlich eine bedeutende analytische Arbeit, legt man jedoch nicht das Hauptgewicht hierauf, so wird man Kriterien dafür entbehren, daß man wirklich aus der Verwirrung der mehr oder weniger zufälligen Mischungen herauskommt. Die Reinigungsprozesse sind selbstverständlich vorzugsweise auf die abweichenden Löslichkeitsverhältnisse der Stoffe basiert. Diese können aber — wie erwähnt — durch Beimischung fremder Stoffe beeinflußt werden, oder das Löslichkeitsverhältnis der Beimischung ist mit der betreffenden Substanz so übereinstimmend, daß man nicht auf diese Weise allein zum Ziel gelangen kann, sondern zur Anwendung besonderer Fällungsreagenzien gezwungen wird. Bei allen diesen Manipulationen mit den Phosphatiden ist daran zu denken, daß auch gewisse molekulare Veränderungen in diesen die Löslichkeitsverhältnisse zu beeinflussen vermögen. Thudichum hat gemeint, derartige Veränderungen bei Wasserabspaltung nachweisen zu können, und ich vermochte veränderte Löslichkeitsverhältnisse bei einem Phosphatid nachzuweisen, das sich durch längeres Stehen in der Luft oxydiert hatte. Auch aus diesem Grunde ist derart zu arbeiten, daß die Stoffe so viel wie möglich gegen solche Einwirkungen geschützt werden. Man soll während der Darstellung die Temperaturen nicht wesentlich überschreiten, unter denen die Phosphatide im Organismus existieren, und alle Eingriffe vermeiden, welche erfahrungsgemäß störend auf leichtveränderliche Atomkomplexe einwirken.

Die demnach an eine Extraktionsmethode zu stellenden Forderungen, welche zur Grundlage einer quantitativen und

qualitativen Schätzung des Gehaltes lecithinartiger Substanzen eines Organs dienen sollen, werden bezüglich wesentlicher Punkte von denjenigen erfüllt, die ich bei meinen Untersuchungen angewendet habe.

Die Methode ist an und für sich keineswegs neu, da sie nur darin besteht, das behutsam getrocknete und pulverisierte Organ einer primären vollständigen Ätherextraktion und einer sekundären vollständigen Alkoholextraktion zu unterwerfen. Indessen weicht sie in ihrer Ausführung in wesentlichen Punkten von früheren ab, und ich muß hervorheben, daß die Motive, gerade diese Methode anzuwenden, wesentlich andere gewesen sind.

Schon die ältesten Untersucher (Gobley) erachteten es für notwendig, das Untersuchungsmaterial vor der eigentlichen Extraktion zu entwässern, und die meisten Untersucher haben allenfalls durch ihre Extraktion eine allmähliche Entwässerung desselben erreicht. Die angewendeten Methoden waren von sehr verschiedenem Wert. Rubow¹⁾ hob mit Recht hervor, die Entwässerung müßte mittels eines schnellen Verfahrens vor sich gehen, das nicht das Material einer schädlichen Einwirkung aussetzte. Er empfiehlt eine Methode, wodurch die Trocknung ohne Anwendung erhöhter Temperatur und ohne Anwendung wassersaugender Mittel ins Werk gesetzt wird. Durch dieses Verfahren ist man in Wirklichkeit einen bedeutenden Schritt weitergekommen, indem Wärmeanwendung vermieden wird, und die Methode sich bei geringer Modifikation wirklich schnell auch zur Trocknung größerer Mengen Material benutzen läßt. Da es sich von Bedeutung erwiesen hat, das entwässerte Material nicht längere Zeit der Einwirkung der Luft (Oxydation) auszusetzen, so ist die Schnelligkeit der Methode von besonderer Wichtigkeit. Vergleicht man dieses Verfahren mit Baumstark's Entwässerungsmethode²⁾ (Entwässerung der feuchten Substanz durch oft wiederholte Ätherextraktionen), welche sich wohl an und für sich verteidigen läßt, so spricht alles zum Vorteil für die Lufttrocknung; Vakuumtrocknung ist unanwendbar, wenn

¹⁾ l. c.

²⁾ Baumstark, Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 145.

das Material groß ist, und von Alkoholtrocknung ist absolut abzuraten. Diesen letzten Punkt muß ich besonders hervorheben, da die Vorbehandlung mit Alkohol allgemein als gleichzeitiges Entwässerungs- und Extraktionsmittel benutzt ist. Auch Rubow¹⁾ erwähnt die Alkoholbehandlung unter den mehr schonenden Mitteln zur Trocknung vor der Extraktion. Es wird aber aus dem nachfolgenden hervorgehen, weshalb eine primäre Alkoholbehandlung absolut zu vermeiden und von ihr als Entwässerungsmittel bei der Reindarstellung der Phosphatide abzuraten ist.²⁾

Bei meiner Untersuchung hat die Trocknung des Untersuchungsmateriales auf ähnliche Weise wie bei Rubows Untersuchungen stattgefunden, jedoch mit einzelnen Modifikationen, welche das Verlangen nach einer schnellen Austrocknung — unter gleichzeitiger Behandlung größerer Mengen Materials — erforderte. Sie wurde hiernach auf folgende Weise ausgeführt: Das Material wurde, nach sorgfältiger Beseitigung sichtbaren Fetts, großer Gefäße, Sehnen, Fascien u. dergl. entweder mit einem Messer oder mit einer Fleischhackmaschine in feine Teile geteilt, worauf es in dünnen Schichten auf große Glasplatten ausgebreitet wurde. Ein kleiner Bergmanns Ventilationsmotor führte einen kräftigen Luftstrom über die Glasplatten, die in besonderen Rahmen unter einer Steigung von ca. 30° vor dem Motor angebracht waren. Durch leichte Erwärmung des Lokales sowie mehrmaliger Wendung des Materials verlor dasselbe fast seinen ganzen Wassergehalt innerhalb 12 Stunden (derart verlor Muskelgewebe während dieses Zeitraums 70—75% an Gewicht.). Falls man große Mengen in Arbeit nimmt und die Schichten daher besonders dick sind, kann es notwendig werden, die Behandlung einige Stunden länger fortzusetzen. Nach dieser bildet das Präparat zusammenhängende spröde Kuchen, welche in kleine Stückchen geschnitten werden. Diese werden in einem Gazebeutel gebracht und in einem Siederskys-Vakuumwärmekasten aufgehängt. Durch den evakuierten, auf 40° C. erwärmt

¹⁾ l. c.

²⁾ Wo es sich nur um Extraktion zu quantitativem Zweck handelt, bietet Rubows Alkoholätherextraktionsmethode große Vorteile.

gehaltenen Wärmekasten, in welchem Schalen mit Chlorcalcium aufgestellt sind, wird ein Strom trockener Luft gesaugt. Nach 4—6 stündiger derartiger Behandlung läßt sich das Präparat auf einer kleinen Handmühle zu einem feinen Pulver vermahlen, welches in flache Glasschalen gebracht und von neuem der angeführten Vakuumtrocknung einige Stunden lang bei 40° C. unterworfen wird. Auf diese Weise erreicht man eine Verwandlung des Materials zu einem fast vollkommen wasserfreien, feinen, leichten, stäubenden Pulver, das sich ausgezeichnet zur Extraktion eignet. Diese ganze Prozedur geht so schnell, daß sie 36—48 Stunden nach dem Schlachten des Tieres vollständig beendet sein kann (bei kleinen Mengen sogar bedeutend schneller), und von dieser Zeit ist das Präparat nur während der ersten Behandlung der Luft ausgesetzt gewesen. Nach dem Vermahlen sollte das Organpulver nur kürzere Zeit der Luft ausgesetzt sein, und falls die Extraktion nicht unmittelbar nach dem Trocknen vorgenommen werden kann, sollte es in evakuierten Behältern über konzentrierter H_2SO_4 aufbewahrt werden, da es hygroskopisch ist und sich gewisse der darin enthaltenen Stoffe leicht oxydieren, wenigstens in rein hergestelltem Zustand. Die Trockenmethode, mittels welcher ich ohne Mühe auf einmal ca. 5 kg Ochsenmuskeln verarbeiten konnte, erscheint mir in dieser Form so anwendbar zu sein, daß sie als allgemeine Methode zu ähnlichem Zweck empfohlen werden könnte.

Wenn ich — wie erwähnt — die Anwendung einer primären Ätherextraktion empfehlen und ausdrücklich von der Anwendung einer primären Alkoholbehandlung abraten muß, so geschieht es, weil man durch diese Methode Stoffe in Freiheit setzt, welche von den bei primärer Ätherextraktion unmittelbar löslichen Phosphatiden verschieden sind. Diese erst nach der Alkoholbehandlung in Äther löslichen Stoffe können durch Aufschub derselben bis nach vollendeter Ätherbehandlung für sich gewonnen werden, während sie — durch die Alkoholbehandlung abgespalten — sonst gleich aufgelöst und auf diese Weise mit den übrigen Phosphatiden vermischt gewonnen werden. Dieser Umstand, welcher bewirkte, daß der Äther den Ruf eines schlechten Lecithinextraktionsmittels bekam, und welcher der Alkoholextrak-

tion einen hervorragenden Platz in allen Lecithindarstellungsmethoden, darunter auch den quantitativen, gegeben hat, ist in Wirklichkeit niemals berücksichtigt. Meine Untersuchungen bekräftigen indessen die schon von Hoppe-Seyler gehegte Vermutung, daß das «Lecithin» zum Teil erst nach einer Alkoholbehandlung extrahiert werden konnte, wahrscheinlich weil es an andere organische Stoffe in den Zellen gebunden war; sie haben jedoch auch ergeben, daß das primäre Ätherextrakt, das fast alle älteren Forscher außer Betracht ließen, und welches die späteren Untersucher mit dem Alkoholextrakt zusammengetan haben, nicht nur bedeutende Mengen Phosphatide enthält, sondern daß diese von denen des Alkoholextraktes verschieden sind. Die später referierten Untersuchungen werden rechtfertigen, daß ich schon jetzt feststelle, man soll die Chancen benutzen, welche sich zu einer leicht gewonnenen Gruppentrennung der Phosphatide durch Anwendung einer primären Ätherextraktion bieten, deren Produkt für sich bearbeitet wird.

Ist das Material auf diese Weise erschöpft, so schreitet man zu der Alkoholextraktion, deren Produkt ebenfalls für sich bearbeitet wird.

Die Technik der Extraktionen weist nichts Besonderes auf, weshalb ich, was Details anbelangt, auf die spätere Besprechung der Untersuchungen verweise. Mit Rücksicht auf deren Resultate sollen die gemachten Andeutungen nur die Wahl der Arbeitsmethode motivieren.

Was die analytischen Bestimmungen betrifft, habe ich zu den Phosphorbestimmungen Neumanns alkalimetrische Phosphorsäurebestimmung¹⁾ angewendet. Diese Methode wurde im hiesigen pharmakologischen Institut durchgeprüft und hat sich als sehr genau, auch bei kleinen Phosphormengen, erwiesen, wenn man nur sorgfältig die Bedingungen erfüllt, unter welchen die Fällung des Ammoniumphosphormolybdates vorzugehen hat. Es ist besonders wichtig, Ammoniumnitrat in so reichlicher Menge zuzusetzen, daß man sicher ist,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 115; Bd. XLIII, S. 32.

während der Fällung über 10⁰/₀ Ammoniumnitrat in der Lösung zu haben.

Die Stickstoffbestimmungen sind nach Kjeldahls Methode mit Wilfarths Modifikation ausgeführt. Der Kontrolle wegen sind die Stickstoffbestimmungen für einzelne zufällig gewählte Produkte nach Dumas vorgenommen. Diese ergaben in den betreffenden Fällen genau übereinstimmende Resultate. Die Elementaranalysen sind nach Dennstedts Methode¹⁾ ausgeführt. Eine Modifikation derselben war jedoch notwendig, da die Phosphatide bei Verbrennung in Porzellanschiffen eine phosphorsäurehaltige Kohle hinterließen, welche selbst bei langwierigem Glühen im Sauerstoffstrom nicht vollständig verbrannt wird.

Da Versuche mit Beimischung feuerfester Stoffe das Resultat nicht verbesserten, blieb man zuletzt dabei stehen, die Phosphatide mit Bleichromat in Kupferschiffen zu verbrennen, eine Methode, die sich seit alter Zeit gegenüber schwer verbrennbaren Stoffen bewährt hat. Wie vorauszusehen, wurde hierdurch die langsame Verbrennung erschwert, welche eine Bedingung dafür ist, daß die Verbrennungsprodukte bei Dennstedts Rohrfüllung vollständig oxydiert werden. Trotz der größten Achtsamkeit und der Ausdehnung der Verbrennung bis auf 7—8 Stunden mißlangen die Analysen doch wiederholt, weil sich die Verbrennung nicht derart abstufen ließ, daß beständig Sauerstoffüberschuß vorhanden war. Diesem Mangel gelang es schließlich abzuhelpen, indem man vor und hinter der Platinquarzschiht oxydierte Kupferdrahtrollen (ca. 6 cm lang) anbrachte und diese stark glühend hielt. Auf diese Art fanden die Verbrennungsprodukte beständig genügend Sauerstoff, selbst wenn die Verbrennung zeitweise etwas stark wurde. Nach der Einführung dieser Modifikation haben die Analysen der Phosphatide und deren Metallverbindungen niemals Schwierigkeiten verursacht. Kontrollanalysen mit Stoffen gekannter Zusammensetzung haben überaus befriedigende Resultate ergeben.

Sämtlichen Berechnungen liegt das internationale Atomgewicht: O = 16 zugrunde.

¹⁾ M. Dennstedt, «Anleitung zur vereinfachten Elementaranalyse», Hamburg 1903.

Untersuchungen über die Phosphatide des Myocardium.

Zu den folgenden Untersuchungen der Herzmuskulatur sind Ochsenherzen benutzt. Dieses Material ist zu jeder Zeit des Jahres zu bekommen und liefert mit verhältnismäßig geringen Ausgaben genügend große Substanzmengen. Dieser letzte Punkt ist für die Durchführung einer einigermaßen vollständigen Untersuchung von besonderer Wichtigkeit. Bei den ersten orientierenden Untersuchungen wurden nur 3—5 Herzen angewendet; bei den späteren vollständigen benutzte ich jedesmal 8 Herzen, welche 1½—2 kg trockenes Pulver lieferten. Im ganzen sind 30—40 Ochsenherzen verarbeitet.

Unmittelbar nach dem Schlachten werden die Herzen sorgfältig von Peri- und Endocardium und Klappen befreit, Fett und größere Gefäße werden ebenfalls weggeschnitten. Das Myocardium wird, wie früher beschrieben, in feine Teilchen zerteilt und nun einer vollständigen Austrocknung und Pulverisierung nach der früher beschriebenen Methode unterworfen.

Bei den ersten Versuchen, wo ich mich im wesentlichen an die Hoppe-Seyler — Diakonowsche Behandlungsweise hielt, und mich demnach ausschließlich mit dem sekundären Alkohol-extrakt beschäftigte, wurde ich nur über die Unanwendbarkeit dieses Verfahrens aufgeklärt. Die Resultate dieser Versuche referiere ich bei der Besprechung des Alkoholextraktes.

Auf Basis der hierbei gemachten Erfahrungen ging ich zu der mehr systematischen Behandlungsweise über, die später angewendet und schon vorher angedeutet ist.

Das getrocknete Muskelpulver wird mit Äther in große, mit eingeschliffenen Stopfen versehene Glasbehälter gebracht, welche jeder ca. 500 g pulverisierte Herzmuskeln und ca. 1 l Äther enthält. Unter häufigem Schütteln wird das Pulver so oft mit Äther bei Stubentemperatur behandelt, bis nichts mehr extrahiert werden kann. Im Anfang wird der Äther täglich unter Anwendung von Auspressung gewechselt, wodurch sich fast das ganze Ätherextrakt 8—10 Tage nach dem Schlachten des betreffenden Tieres gewinnen läßt (bei 4—5 Ätherbehandlungen). Die Ätherextrakte werden unter der Luftpumpe bei

niedriger Temperatur bis zu Sirupkonsistenz eingeengt und unter Kohlensäure im Dunkeln aufbewahrt. Hiermit ist die Ätherextraktion jedoch nicht beendet. Es läßt sich außerdem ein Extrakt gewinnen, welches ganz gewiß gering ist, das jedoch vor dem Beginn der Alkoholextraktion entfernt werden muß.

Ist das Herzmuskelpulver auf diese Weise, 8—10 Ätherextraktionen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur unterworfen worden, indem man den Äther schließlich nur jeden 8.—10. Tag wechselt, so werden nur ganz minimale Mengen extrahiert. Diese Schlußbehandlung mit Äther zur Entfernung der letzten Spuren der ätherlöslichen Bestandteile dauert im allgemeinen 2—3 Monate, während welchen demnach 2 kg Muskelpulver allmählich mit ca. 40 l Äther behandelt werden. Die Zeit, welche hierbei verstreicht, wird zur Untersuchung der Hauptmenge des Extraktes benutzt, der schon nach den 4—5 schnell aufeinander folgenden ersten Extraktionen gewonnen ist.

Nachdem die sorgfältige Ätherextraktion beendet, der letzte Äther durch energische Auspressung entfernt und das ausgepreßte Pulver kurze Zeit an der Luft ausgebreitet ist, bis die letzten Ätherreste verdampft sind, beginnt die Alkoholextraktion. Diese wird mit starkem Alkohol (90—96%) vorgenommen, anfangs bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, später bei 40—45° C. Während die letzten Ätherextrakte trotz längeren Stehens praktisch ungefärbt waren, färbt sich das erste Alkoholextrakt bei Zimmertemperatur schnell stark gelb. Die folgenden Extraktionen werden bei 40—45° C. auf einem großen Wasserbad ausgeführt, auf welchem die Glasbehälter in Wasser versenkt angebracht werden. Der Inhalt der Glasbehälter wird wiederholt mittels eines schweren Glasstabes umgerührt. Auf diese Weise lassen sich die Extraktionen mit 4—5 Behandlungen vollenden, welche sich jede auf 24—48 Stunden erstreckt (wovon 6—12 Stunden bei 40—45° C.). Zwischen jeder Behandlung wird die ganze Masse kräftig ausgepreßt, worauf man sofort frischen Alkohol zusetzt. Die filtrierten Alkoholextrakte werden sofort unter der Luftpumpe bei 40° C. abgedampft und gewogen, so daß beständig die Extraktionsmenge zu beurteilen ist. Hierbei beobachtet man eine gleichmäßige

und starke Abnahme der Extrakte, so daß das nach der 5. Extraktion gewonnene verschwindend ist.¹⁾ Die Gesamtmenge der Ätherextrakte und die der Alkoholextrakte wird jede für sich untersucht.

Es ist hier kein Gewicht darauf gelegt, den rein quantitativen Wert dieser Extraktionsmethode z. B. mit Rubows Methode zu vergleichen. Indessen habe ich doch durch einige systematische Untersuchungen die Mengenverhältnisse der verschiedenen Fraktionen ganz oberflächlich bestimmt.

	Trocken- substanz g	Äther- extrakt g	Alkohol- extrakt g	Gesam- melte Extrakt- menge %	Acetonunlösliche Teile		
					des Äther- extrakts g	des Alkohol- extr. ²⁾ g	Zu- sammen %
8 Herzen	1925	136	184	16,62	60	80	7,01
8 »	1440	125	141	18,54	52	96	10,28

Diese Zahlen sind daher nur als ein grobes Bild der Werte zu betrachten, um welche es sich in ähnlichen Fällen handeln wird, um so mehr, da die angeführten Zahlen nur Minimalwerte infolge der durch die Trennung erlittenen Verluste sind. Indessen ist es von Wichtigkeit zu wissen, ob die angewendete Methode einen guten Lecithinertrag gibt, wenn dieser aus dem Phosphorgehalt der ätherlöslichen Teile im Extrakt berechnet wird (wie von Rubow). Zu diesem Zweck sind in der erstgenannten der 2 Untersuchungen, Phosphorbestimmungen sämtlicher ätherlöslicher Fraktionen vorgenommen. Aus dem Prozentgehalt in diesen und deren Mengenverhältnis läßt sich die totale Phosphormenge berechnen. Die Filtrate der Acetonfällungen sind ebenfalls trotz ihres geringen Phosphorgehalts mitgenommen.

¹⁾ Eine Probe, die nachher ausgenommen wurde, ergab nach mehrstündiger Extraktion mit Chloroform (bei 45—50° C.) nur einen minimalen Extrakt, das nur Spuren von Phosphor enthielt, und nach Lösung in Alkohol mit Platinchlorid keinen Niederschlag gab.

²⁾ Von der ätherlöslichen Fraktion des Alkoholextraktes.

Auf diese Weise fand man in den erstgenannten 8 Herzen 5,48 g Phosphor in den ätherlöslichen Teilen der Extrakte; dies entspricht 7,49% «Lecithin» (nach der gewöhnlichen Berechnungsmethode). Zieht man in Betracht, daß alle die gefundenen Gewichtsmengen Minimalwerte sind, so scheint das Resultat im wesentlichen ebenso hoch zu sein, wie dasjenige (ca. 8%), welches sowohl Rubow wie auch ich bei Bestimmungen nach seiner Methode erhalten haben. Ich muß hinzufügen, daß, falls diese Berechnung betreffs der letztgenannten 8 Herzen durchgeführt wäre, so würde das Resultat sicherlich bedeutend höher ausgefallen sein.

Ich glaube aus dieser Betrachtung schließen zu dürfen, daß die Phosphatide bei der angewendeten Methode ebenso vollständig wie bei Rubows Verfahren extrahiert werden, was Bedeutung hat, selbst wenn das Ziel der beiden Methoden ein wesentlich verschiedenes ist.

Das Ätherextrakt.

Die gesamten und sorgfältig (s. o.) aufbewahrten Ätherextrakte der Ochsenherzen werden bei niedriger Temperatur (Wasserbad unter 40° C.) im Vakuum abgedampft, um die letzten Reste des Wassers zu entfernen, welches der Äther unter der Extraktion vom Präparat aufgenommen hat.

Das getrocknete Extrakt, das eine braungelbe, sirupartige Masse bildet, wird mit einer geringen Menge reinen Äthers behandelt, wodurch die Hauptmenge aufgelöst wird, und leicht von einem unbedeutenden, weißlichen Rest (a) abfiltriert.

Dem klaren, braungelben, konzentrierten, ätherischen Filtrat wird unter Umschüttelung kaltes wasserfreies Aceton zugesetzt, so lange noch Niederschlag entsteht, worauf es zum Absetzen des Niederschlags an einen kühlen Ort (5° C.) gestellt wird.

Der Acetonniederschlag besteht teilweise aus einer größeren, braungelben, zusammengeballten Masse, teilweise aus einem feinen weißlichen Niederschlag. Die stark braungelb gefärbte Acetonätherlösung, welche den größten Teil der Fettstoffe des Extraktes enthält, läßt sich leicht abfiltrieren und zu gesonderter Untersuchung aufbewahren (siehe Acetonlösung).

Der Acetonniederschlag wird nun vollständig mittels Vakuumbehandlung unter leichter Erwärmung ($35-40^{\circ}$ C.) und Durchleitung trockener Luft von anhaftendem Aceton befreit. Derart getrocknet löst man das Produkt wiederum in wasserfreiem Äther auf und stellt es hin, bis sich ein minimaler, feiner, weißlicher Niederschlag (von demselben Charakter wie a) gesetzt hat, worauf dekantiert und filtriert wird.

Eine Probe der derart hergestellten Ätherlösung hält sich tagelang klar und gibt nach dem Abdampfen und Trocknen ein Produkt, dessen Phosphor- und Stickstoffgehalt¹⁾ andeutet, daß wir es mit Stoffen höheren Phosphorgehalts und niedrigeren Stickstoffgehalts als dem Lecithin zu tun haben. Da ich bei präliminaren Untersuchungen gefunden hatte, daß dieses Produkt aus einem alkohollöslichen und einem alkoholunlöslichen Teil bestand, so glaubte ich erst, es handelte sich um das Vorhandensein einer kephalinartigen Substanz, und folgte bei dem folgenden Verfahren hauptsächlich Kochs²⁾ Kephalarstellungsmethode, welche hier zu einem anderen, aber nicht weniger interessanten Fund führte.

Die Ätherlösung wird mit ca. 4 Volumen absolutem Alkohol gefällt, wodurch sich momentan ein bedeutender Niederschlag bildet, welcher teilweise aus gelbbraunen, klebrigen Massen besteht, die sich beim Schütteln an den Seiten des Glases festsetzen, teilweise aus einem losen, weißlichen Niederschlag, der sich nur langsam setzt. Nach 12—24 stündigem Stehen in der Kälte ($0^{\circ}-2^{\circ}$ C.) wird die klare ätheralkoholische Lösung abfiltriert, während der Niederschlag (b) mit kaltem, absolutem Alkohol gewaschen wird.

Das ätheralkoholische Filtrat vom Niederschlag b wird im Vakuum abgedampft und in absolutem Alkohol gelöst, wobei ein geringerer, unlöslicher Teil desselben Charakters wie b restiert, den man diesem beifügt.

Nun sind die acetonunlöslichen Bestandteile des Ätherextraktes in einen alkohollöslichen Teil und

¹⁾ Bei einer der Darstellungen ergab das Produkt einen P-Gehalt von $4,25\%$ und einen N-Gehalt von $1,52\%$.

²⁾ l. c.

einen alkoholunlöslichen Teil: b getrennt. Der Niederschlag b wird von neuem in Äther gelöst und mit Alkohol gefällt. Darauf wird er im Wärmeschrank bei 60° mit absolutem Alkohol behandelt, wodurch sich der weißliche, lose Niederschlag auflöst, während die bräunlichen Massen, die in der Wärme etwas sirupartig sind, beim Abgießen der Alkoholösung zurückbleiben. Da die bräunliche Substanz häufig noch weißliche Körnchen enthält, löst man sie von neuem in Äther und fällt sie wiederum mit absolutem Alkohol, worauf sie mit warmem absoluten Alkohol bei 60° C. behandelt und schließlich mit Alkohol gewaschen wird.

Das schwach gelbliche, alkoholische Filtrat scheidet bei der Abkühlung einen losen, weißen Niederschlag (b_{II}) aus, der mit kaltem Alkohol gewaschen wird.

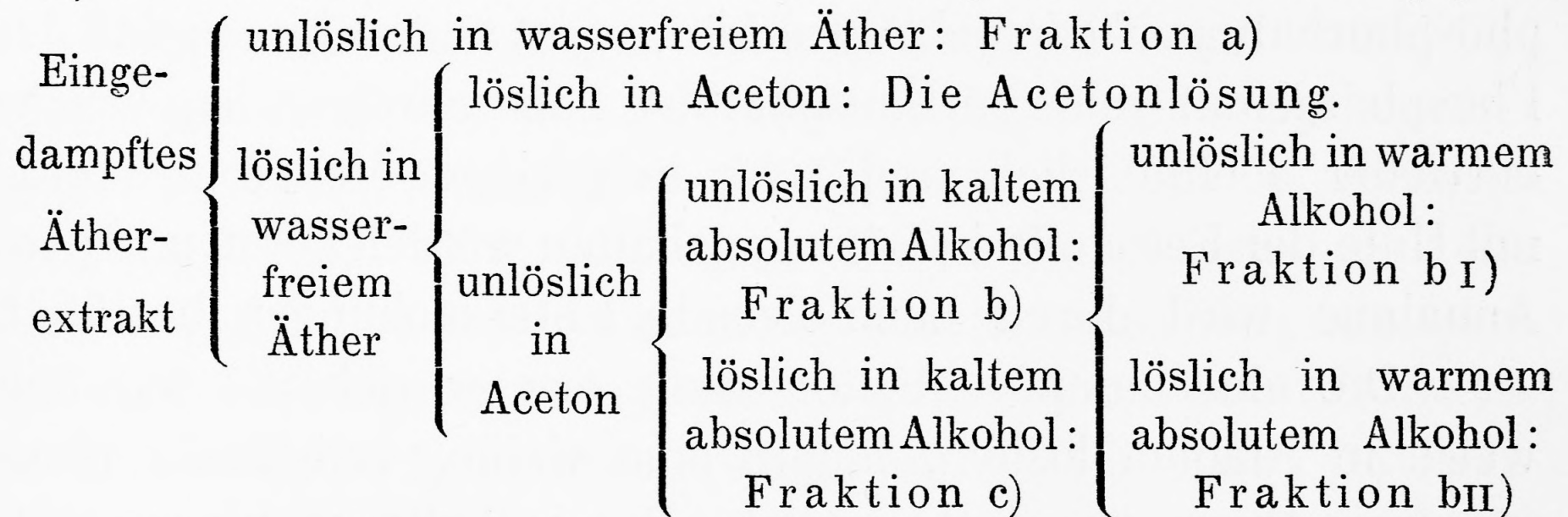
Die ungelöste gelbbraune Substanz (b_I), welche die Hauptmenge des Niederschlages b repräsentiert, wird in einer geringen Menge absoluten Äthers gelöst. Die Lösung wird unter Kohlensäure bei niedriger Temperatur hingestellt, wobei sich ein minimaler Niederschlag absetzt, indem die Lösung vollkommen klar wird. Die klare Ätherlösung wird in der Kälte (0°) mit wasserfreiem Aceton gefällt und gut geschüttelt. Der hierdurch entstandene, gelbliche Niederschlag klebt nicht zusammen, setzt sich aber doch einigermaßen beim Stehen. Da er sich nicht leicht filtrieren läßt, wird hier mit Vorteil die Zentrifuge angewendet. Die Flüssigkeit ist kaum gefärbt. Der Niederschlag wird durch vorsichtige Behandlung unter der Luftpumpe von Aceton befreit und hat nun in der Kälte bedeutende Härte. Schließlich löst man in einer geringen Menge warmen Essigesters (frisch gereinigt und gerade bei 74—76° rektifiziert) und stellt ihn bei niedriger Temperatur (ca. — 2° C.) in den Kühlschrank, wodurch b_I wiederum ausfällt und sich als ein bräunlicher Sirup fester Konsistenz auf dem Boden des Glases sammelt. Die Umfällung aus Essigester wird wiederholt. Der Essigester wird dabei beständig leicht gelbgefärbt.¹⁾ Nach De-

¹⁾ Ich habe mich durch Phosphorbestimmung im Abdampfungsrückstand der Essigesterlösung davon überzeugt, daß die Umfällung aus Essigester wirklich eine Reinigung ist.

kantierung und Absaugen des restierenden Essigesters erweist sich b_I in absolutem Äther vollständig und klar löslich. Es wird im Vakuumtrockenschrank bei 40° C. unter Durchleitung von Kohlensäure und schließlich im Vakuum über konzentrierter H₂SO₄ getrocknet und danach in feine Stückchen geteilt. Der Exsikkator wird andauernd wohl evakuiert gehalten und an einen dunklen Ort gestellt.

Das Filtrat von b. Das alkoholische Filtrat von b, welches neutrale Reaktion aufweist, wird, wie erwähnt, im Vakuum abgedampft und von restierenden Spuren von b getrennt. Die klare Alkohollösung wird unter der Luftpumpe eingedampft, der Rückstand löst sich klar in Äther und wird aus demselben ungefähr quantitativ mittels kalten Acetons gefällt. Dieser Niederschlag (c), welcher helle, orangefarbene Massen bildet, wird im Vakuum über konzentrierter H₂SO₄ getrocknet.

Bevor ich zur Besprechung der verschiedenen Fraktionen übergehe, in welche das Ätherextrakt auf diese Weise mittels rein physikalischer Methoden geteilt ist, füge ich ein Schema bei, das eine Übersicht über das Prinzip für die Trennung gibt.



Die in obenangeführter Übersicht benannte Fraktion a, welche alles in allem überaus unbedeutend ist und nur der Vollständigkeit wegen mitgenommen wird, bildet nach dem Trocknen graulichweiße, harte, spröde Massen, die in wasserhaltigem Äther ganz unlöslich zu sein scheinen. Sie hinterläßt beim Erhitzen auf dem Platinblech einen bedeutenden, unverbrennbaren Rest, welcher Cl- und P-Reaktion gibt. Bei quantitativen Phosphor- und N-Bestimmungen werden 6,39 % P und 1,86 % N gefunden. Nach diesem scheint a zum großen Teil aus unorganischen Stoffen (Salzen) zu bestehen, welche mit den großen Mengen teilweise wasserhaltigen Äthers extrahiert sind. Man denke in diesem

Zusammenhang an Loews¹⁾ Angabe, daß wasserhaltiger Äther u. a. geringe Mengen Monokaliumphosphat löst. Der recht bedeutende Phosphorgehalt des Niederschlages könnte für das Vorhandensein von Phosphaten in demselben sprechen. Der Niederschlag ist übrigens keiner weiteren Untersuchung unterworfen.

Die Acetonlösung: Es zeigt sich, daß die acetonlöslichen Teile des Ätherextraktes, welche hauptsächlich aus Fett bestehen, und deren Menge daher mit dem Fettgehalt des Organs variiert, konstant eine geringe Menge phosphorhaltiger Stoffe enthalten. Es ergibt sich demnach, daß Aceton die phosphorfreien und die phosphorhaltigen Stoffe nicht vollständig trennt. Der Phosphorgehalt, der Abdampfungsrückstand war aber nur gering, indem bei zwei verschiedenen Darstellungen resp. 0,3% und 0,26% P gefunden wurden. Dieser P-Gehalt ist nicht dem Vorhandensein von Phosphaten zuzuschreiben, indem eine Lösung der abgedampften Acetonlösung in Petroleumäther nach gründlichem und häufigem Schütteln mit Wasser keine Abnahme des Phosphorgehalts erlitt. Da man außerdem bei Zusetzung von Platinchlorid und Cadmiumchlorid zu den ätheralkoholischen Lösungen phosphorhaltige Niederschläge erhält, so ist anzunehmen, daß der Phosphorgehalt gelösten Phosphatiden zuzuschreiben ist, welche entweder acetonlöslich sind, oder in geringer Menge in Aceton mit Hilfe der Fettstoffe in Lösung gehalten werden können. Diese Annahme wird durch nachfolgende Untersuchungen bestätigt.

Die eingedampfte Acetonlösung erwies sich als nur teilweise in Alkohol löslich, indem eine weiße, vollständig phosphorfreie Masse ungelöst verblieb. Die enthaltenen Phosphatide mußten sich demnach in der bei 0° filtrierten Alkohollösung befinden. Angestellte Proben ergaben, daß man auch jetzt nach dem Abdampfen und Lösen in Äther keinen Niederschlag mit Aceton bekommen konnte. Die alkoholische Lösung wurde mit einer alkoholischen Platinchloridlösung in Überschuß gefällt. Der feine, blaßgelbe Niederschlag wird sorgfältig mit absolutem Alkohol gewaschen. Nach dem Trocknen im Exsikkator bildet der Niederschlag hellorange gelbe Massen. Das Filtrat der Platinchloridfällung enthält nur Spuren von Phosphorsäure.

¹⁾ Loew, Pflügers Archiv, Bd. XIX, S. 342.

Analytische Beilage.

0,2134 g hinterlassen nach dem Glühen 0,0258 g Pt = 12,09% Pt.

0,2756 » » » » » 0,0331 » » = 12,01% »

0,2593 » verbrauchten bei Neumanns P-Best. 17,28 ccm n_{10} -Natron
= 3,69% P.

0,3900 g verbrauchten bei Kjeldahls N-Best. 5,02 ccm n_{10} -H₂SO₄
= 1,81% N.

0,1934 g ergaben bei Elementaranalyse $\left\{ \begin{array}{l} 0,1294 \text{ g H}_2\text{O} = 7,46\% \text{ H.} \\ 0,3332 \text{ » CO}_2 = 47,00\% \text{ C.} \end{array} \right.$

Das Material war hiermit erschöpft. Wird angenommen, daß diese Verbindung eine ähnliche Konstitution wie das salzsaure Lecithinplatinchlorid besitzt, so erhält man annähernd die Formel: $(\text{C}_{33}\text{H}_{62}\text{NPO}_8)_2, \text{H}_2\text{PtCl}_6$.

Da sich indessen das Lecithin nach Thudichums¹⁾ Angaben auch mit PtCl₄ allein (ohne HCl) verbindet, oder in einer Verbindung auftreten kann, in welcher nur eine HCl-Gruppe auf eine PtCl₄-Gruppe kommt, so ist die Formel nicht ganz sicher. Sie zeigt indessen, daß es sich hier um Phosphatide handelt, in denen N : P = 1 : 1 ist. Das Verhältnis zwischen diesen und Platin ist dasselbe wie in Lecithinplatinchlorid. Die analytischen Bestimmungen weisen übrigens bedeutende Abweichungen von Streckers Analysen der Platinchloridverbindung des Lecithins auf. Da die Verbindung nur in geringen Mengen gefunden wird, und es nur meine Absicht war, zu konstatieren, daß bei der Anwendung der Acetonfällung als Darstellungsmittel Phosphatide verloren gingen, so habe ich dieses Produkt nicht eingehender verfolgt. Die Untersuchung ist insofern ausreichend gewesen, so daß es festgestellt werden kann, daß sich eine quantitative Gewinnung der Phosphatide nicht mittels Methoden erreichen läßt, welche auf deren Unlöslichkeit in Aceton basiert sind.

Bevor ich zur Besprechung der Hauptprodukte b_I und c übergehe, restiert die Besprechung von b_{II}. Dieser in warmem Alkohol lösliche, in kaltem Alkohol unlösliche Teil des Acetonniederschlages scheint wesentlich aus Fettstoffen zu bestehen. Dieses Produkt erinnert etwas an das von Zuelzer auf

¹⁾ l. c. S. 120.

ähnliche Weise aus Eidotter gewonnene, das wesentlich aus Tripalmitin bestand. Es kann nicht wundern, daß man hier Fettstoffe antrifft, die ja nicht alle in kaltem Aceton löslich sind. Andererseits handelt es sich aber nicht ausschließlich um Fettstoffe. Nach wiederholten Umkrystallisationen (4 mal) schwindet das im voraus geringe Produkt zu einer geringen Menge eines weißen, spröden, leicht fettigen Körpers, der vollständig verbrennbar ist. Dieser Körper gibt nicht Salkowskis Reaktion, enthält nicht Schwefel. Die Gesamtmenge des derart gereinigten Präparates betrug aus 8 Ochsenherzen ca. 50 cg. Es enthielt 1,08 % P, 11,36 % H und 72,61 % C.

Nach mehrstündigem Kochen mit 2¹/₂ %iger H₂SO₄ gibt das Filtrat eine schwache, aber deutliche Reduktion von Fehlings Lösung.

Das Produkt ist nur deshalb von Interesse, weil es den einzigsten und unbedeutenden Anteil des Ätherextraktes repräsentiert, welcher Charaktere aufweist, die an Protagon oder Jecorin erinnern könnten.

Die Hauptprodukte des Ätherextraktes sind b_I und c. Die Mengenverhältnisse sind bei den verschiedenen Darstellungen nicht ganz konstant; b_I befand sich durchschnittlich im Übergewicht über c. Die Reinigungsprozesse zehren allmählich einen Teil dieser Phosphatide (b_I ist kaum vollständig unlöslich in kaltem Essigester). Es ist demnach nicht leicht, etwas Genaues über die Menge dieser 2 Hauptphosphatide zu sagen. Sie repräsentieren aber zusammen ca. 2—2,2 % der Trockensubstanz des Herzens.¹⁾

Das Cuorin (b_I).

Die Fraktion b_I hat sich bei näherer Untersuchung als ein Phosphatid erwiesen, dessen Konstitution so bedeutend von den früher beschriebenen abwich, daß ich es für praktisch erachtete,

¹⁾ Es finden sich also von den Hauptphosphatiden des Ätherextraktes größere Mengen (trotz des Verlustes bei der Darstellung), als Koch u. Woods (Journal of Biological Chemistry, Vol. I, S. 203) bei ihrer Lecithinbestimmung für sämtliche Phosphatide im Herzen finden (1,61—1,69 %).

ihr einen Namen zu geben, teilweise um ihren Unterschied von der Lecithin-Myelingupe zu markieren, teilweise um ihre Nichtübereinstimmung mit Kephalin hervorzuheben, mit welchem es durchweg seine physikalischen Eigenschaften zu teilen scheint. Der Name Cuorin,¹⁾ welchen ich in Vorschlag bringen will, bezieht sich auf das vorzugsweise Vorkommen der Verbindung im Myocardium, während andere untersuchte Substanzen sie nicht — oder allenfalls nur spurweise — enthalten.

Das Cuorin ist eine gelbbraune, transparente, fast geruchlose Substanz, welche nach dem Trocknen von harter, fast harziger Konsistenz ist und sich einigermaßen leicht pulverisieren läßt. Sie ist sehr hygroskopisch und wird bei Aufnahme von Wasser klebrig, später flüssig. Beim Erwärmen auf dem Platinblech schmilzt sie unter Zersetzung und verkohlt unter Entwicklung leicht entzündbarer Dämpfe. Bei Lassaignes Probe erhält man deutliche Reaktion auf N; die Substanz gibt keine Reaktion auf Schwefel. (Schmelzen mit Natrium und Prüfung auf Schwefelmetall mit Nitroprussidnatrium.) Die Substanz reduziert nicht Fehlingsche Lösung, selbst nach längerem Kochen mit verdünnter H_2SO_4 .

Löst sich nach dem Trocknen im Vakuum leicht in Äther, Chloroform, Petroleumäther und Schwefelkohlenstoff, etwas schwerer in Benzol bei gewöhnlicher Temperatur. Bei erhöhter Temperatur ist es in Essigester, Eisessig und Amylalkohol löslich, wird jedoch beim Abkühlen wiederum aus diesen Lösungsmitteln ausgeschieden. In Alkohol, Methylalkohol und Aceton ist es selbst beim Erwärmen bis zum Kochen unlöslich. In Wasser sinkt es sofort zu Boden, worauf es anfängt langsam aufzuquellen, bis es sich schließlich vollständig zu einer trüben, emulsionartigen Halbösung verteilt, in welcher sich keine isolierten Partikelchen unterscheiden lassen. Die neutral reagierende Lösung gibt beim Stehen keinen Niederschlag und läuft trübe durch das Filter. Bei Zusatz von Alkalien zur wässerigen Lösung wird diese vollkommen klar, während kohlen-saure Alkalien die Trübung nicht ganz beseitigen.

¹⁾ Cuore (italienisch) = Herz.

Es löst sich mit braungelber Farbe in konzentrierter H_2SO_4 . Diese Lösung gibt bei Zusatz eines 10%igen Zuckersirups Pettenkofers Reaktion.

Bei Zusatz alkoholischer Platinchloridlösung zur ätherischen Lösung stellt sich kein Niederschlag ein, setzt man jedoch — nach dem Hinzufügen reichlicher Mengen Platinchlorids — absoluten Alkohol in bedeutendem Überschuß zu, so entsteht ein voluminöser, blaßgelber Niederschlag, während die obenstehende Flüssigkeit fast ungefärbt ist. Ebenso läßt sich die ätherische Lösung mit alkoholischer Cadmiumchloridlösung fällen. Diese Fällung scheint ganz ungefärbt zu sein.

Der Schmelzpunkt ist hier wie bei anderen Phosphatiden schwer zu bestimmen, da der Übergang nicht scharf ist und die Substanz während des Erwärmens sich zu zersetzen anfängt. Er liegt indessen bedeutend höher als der des Lecithins. Beim Erwärmen im Kapillarrohr wird das Cuorin bei ca. 80°C . vollständig durchsichtig, darauf findet erst bei $115\text{—}120^\circ\text{C}$. eine sichtbare Veränderung statt; die Substanz wird alsdann dünnflüssig, färbt sich dunkler und beginnt zu schäumen.

Sämtliche Untersuchungen und Reaktionen sind an dem frischhergestellten Präparat ausgeführt. Dies ist wohl in Betracht zu ziehen, denn die Verbindung wird sehr leicht von äußeren Verhältnissen beeinflusst, und wie wir unten sehen werden, hat diese Beeinflussung eine hervorragende Einwirkung auf die physikalischen Verhältnisse. Aus demselben Grunde sind die Analysen natürlich sofort nach der Darstellung vorzunehmen, weshalb in untenstehender Übersicht nur die an dem frischen Präparat gemachten Bestimmungen angeführt werden.¹⁾ Erst als diese Eigenschaften des Stoffes erkannt waren und entsprechende Kautelen beachtet wurden, gaben die Analysen übereinstimmende Resultate.

Die folgende Übersicht umfaßt 3 verschiedene, frisch hergestellte Cuorinpräparate und sämtliche an diesen angestellten Analysen.

¹⁾ Bei Präparat III wurden die Analysen schon ca. 14 Tage nach dem Schlachten des betreffenden Tieres ausgeführt.

Die Analysen des Cuorins.

	Präparat I		Präparat II			Präparat III		Durchschnitt %	Atome (Nr. = 1)	Berechnet für $C_{71}H_{125}NP_2O_{21}$ %
	%	%	%	%	%	%	%			
C	—	—	61,86	61,46	61,57	61,76	61,52	61,63	71,02	61,33
H	—	—	8,93	8,92	9,11	9,18	9,09	9,03	124,6	9,02
N	—	1,01	1,01	1,02	—	1,01	1,03	1,015	1	1,01
P	4,46	4,50	4,43	4,41	—	4,46	4,52	4,46	1,99	4,47
[O]	—	—	—	—	—	—	—	23,86	20,63	24,17

Analytische Beilage.

I. Phosphorbestimmung:

0,3506 g verbrauchten 28,25 ccm $n/2$ -Natron = 4,46% P

0,3759 » » 30,58 » » = 4,50% »

Kjeldahlanalyse:

0,7143 g verbrauchten 5,13 ccm $n/10$ - H_2SO_4 = 1,01% N.

II. Elementaranalyse:

0,2113 g gaben 0,1693 g H_2O = 8,93% H und 0,4792 g CO_2 = 61,86% C

0,2420 » » 0,1938 » » = 8,92% » » 0,5443 » » = 61,46% »

0,1915 » » 0,1567 » » = 9,11% » » 0,4323 » » = 61,57% »

Phosphorbestimmung:

0,3205 g verbrauchten 25,66 ccm $n/2$ -Natron = 4,43% P

0,3596 » » 28,63 » » = 4,41% »

Kjeldahlbestimmung:

0,5608 g verbrauchten 4,04 ccm $n/10$ - H_2SO_4 = 1,01% N

0,6660 » » 4,85 » » = 1,02% »

III. Elementaranalyse:

0,2921 g gaben 0,2408 g H_2O = 9,18% H und 0,6614 g CO_2 = 61,76% C

0,4281 » » 0,3492 » » = 9,09% » » 0,9656 » » = 61,52% »

Phosphorbestimmung:

0,3393 g verbrauchten 27,32 ccm $n/2$ -Natron = 4,46% P

0,3156 » » 25,75 » » = 4,52% »

Kjeldahlbestimmung:

0,5857 g verbrauchten 4,22 ccm $n/10$ - H_2SO_4 = 1,01% N

0,8994 » » 6,57 » » = 1,03% »

Die empirische Formel des Cuorins ist hiernach:
 $C_{71}H_{125}NP_2O_{21}$. Sowohl in ätherischer Lösung, wie auch beim

Stehen an der Luft, untergeht das Cuorin eine Veränderung, deren Charakter aus folgendem hervorgehen wird:

Eine Probe des Präparates II (siehe Analysen) wird in Äther gelöst und in einer wohlverschlossenen, gefüllten Flasche 3—4 Wochen an einen dunklen Ort gestellt. Die Lösung setzt nur einen minimalen Niederschlag und verändert nicht ihre Farbe (so wie ätherische Kephalinlösung). Nach vorsichtigem Abdampfen des Äthers und Vakuumtrocknung erhalten wir folgende Analysen:

Elementaranalyse:

0,3408 g gaben 0,2748 g H₂O = 8,98% H und 0,7494 g CO₂ = 59,98% C
 0,2401 » » 0,1919 » » = 8,91% » » 0,5291 » » = 60,10% » »

Geht man davon aus, daß die Anzahl der C-, P- und N-Atome und demnach deren gegenseitige Verhältnisse im Molekül unverändert geblieben sind, so läßt sich die veränderte Zusammensetzung der Verbindung auf C₇₁H₁₂₇NP₂O₂₃ berechnen, woraus hervorgeht, daß die Veränderung (außer einer geringen Steigerung des H-Gehalts) wesentlich in einer Zunahme der Sauerstoffmenge besteht. Längere Zeit in getrocknetem und fein zerteiltem Zustand in nicht evakuiertem Exsikkator (über H₂SO₄) aufbewahrt, ergab ein anderes Cuorinpräparat (I) folgende Analysen:

Elementaranalyse:

0,1912 g gaben 0,1418 g H₂O = 8,26% H und 0,3937 g CO₂ = 56,15% C
 0,1697 » » 0,1247 » » = 8,19% » » 0,3485 » » = 56,01% » »

Das Verhältnis C : H ist demnach ganz dasselbe wie in C₇₁H₁₂₅NP₂O₂₁, indem die Werte ca. 9% niedriger sind. Rechnet man, daß der P-Gehalt und der N-Gehalt im gleichen Verhältnis wie C und H verändert ist (was sich bei einem zweiten Versuch als tatsächlich erwies), so erhalten wir:

	Prozente	Atome (N = 1)
C	= 56,08	71,30
H	= 8,22	125,07
N	= 0,92	1
P	= 4,06	2,00
[O]	= 30,72	29,98

die empirische Formel: C₇₁H₁₂₅NP₂O₃₀, was nur als eine sehr bedeutende Oxydation ausgelegt werden kann. Folgende Beobachtung bekräftigt diese Annahme. Eine Probe des Prä-

parates II wird in ein Wiegegglas gebracht. Das feinzerteilte und getrocknete Präparat wird gewogen und über konzentrierter H_2SO_4 in den Exsikkator gestellt. Das Wägen, das während längerer Zeit wiederholt wurde, ergab folgende Resultate:

Datum	Gewicht
29. 12. 1904	0,3705 g
30. 12. 1904	0,3737 »
5. 1. 1905	0,3817 »
11. 1. 1905	0,4001 »
21. 1. 1905	0,4038 »
30. 1. 1905	0,4042 »
6. 2. 1905	0,4039 »
16. 3. 1905	0,4022 »
26. 4. 1905	0,3992 »
3. 6. 1905	0,3974 »
20. 10. 1905	0,3949 »

Die Gewichtszunahme betrug demnach im Laufe ca. 1 Monats fast 9% (8,92%), was gut damit übereinstimmt, daß die Analysen für obengenanntes Präparat ca. 9% zu niedrig ausfallen konnten. Nach dem Aufhören der Gewichtszunahme wurde eine langsame Gewichtsabnahme beobachtet, während das Präparat in demselben Exsikkator an einem ganz gewiß häufig sonnenbeschienenen Ort stand. Die Gewichtsabnahme kann möglicherweise auf eine spätere Wasserabgabe während der langwierigen Sonnenlichtbeeinflussung des oxydierten Präparates beruhen; jedoch ließ sich dieses Verhältnis nicht näher aufklären.

Die Veränderung des Cuorins beim Stehen in trockener Luft äußert sich auch auf andere Weise. Während das frisch hergestellte Präparat eine Jodzahl von ca. 101 zeigte, erhielt man bei Jodzahlbestimmungen eines der oxydierten Präparate nur ca. 22 (Bestimmungen nach v. Hübl).

Analytische Beilage.

	Jodzahl
$\text{C}_{71}\text{H}_{125}\text{NP}_2\text{O}_{21}$ { 0,2361 g banden 0,2377 g Jod : 100,68	
{ 0,2121 » » 0,2124 » » : 100,17	
{ 0,1480 » » 0,1504 » » : 101,66	
$\text{C}_{71}\text{H}_{125}\text{NP}_2\text{O}_{30}$: 0,3245 » » 0,0720 » » : 22,33	

Die Verringerung der jodabsorbierenden Fähigkeit des

Cuorins spricht dafür, daß hauptsächlich die jodabsorbierenden Elemente im Molekül, also die Fettsäureradikale, verändert werden.

Auch die rein physikalischen Eigenschaften des Cuorins werden durch die Autoxydation verändert. Die Konsistenz wird härter, vollständig harzig, und im Gegensatz zu dem frischen Präparat erweist sich das Cuorin in Äther unlöslich (sowohl in wasserfreiem wie auch in wasserhaltigem). Auch anderen Lösungsmitteln gegenüber verhält es sich wie eine schwerer lösliche Substanz. Dies gilt aber nicht für Wasser. Während das frische Präparat mit Wasser eine Emulsion bildet, löst sich das oxydierte Präparat ohne Erwärmung langsam, aber vollständig im Wasser. Die einzelnen Partikelchen verquellen, werden vollständig transparent und lösen sich schließlich zu einer vollkommen klaren, hellgelben Flüssigkeit, welche selbst nach längerem Stehen nicht den geringsten Niederschlag gibt. Schüttelt man die wässrige Lösung mit Äther, so nimmt dieser nichts auf. Zusatz von Alkohol zu der wässrigen Lösung ruft einen weißlichen Niederschlag hervor, welcher nach dem Trocknen in Äther unlöslich ist. Es ist kaum ein deutlicherer Beweis dafür erforderlich, daß die Phosphatide nicht alle so unveränderliche Atomkomplexe sind, wie Thudichum annimmt, und es ist nach diesen Erfahrungen verständlich, warum es von größter Bedeutung ist, daß während der Darstellung vermieden wird, das Präparat einer Oxydation und langdauernden Aufbewahrung in ätherischer Lösung auszusetzen.

Das Cuorin ist, wie erwähnt, ebenso wie andere Phosphatide imstande, Verbindungen mit Platinchlorid und Chlorcadmium einzugehen. Es geht aus späteren Untersuchungen hervor, daß Verbindungen dieser Art, mit leichter zugänglichen Phosphatiden, bisher so wenig studiert und die Verhältnisse so unklar sind, daß momentan keine Veranlassung vorliegt, eine eingehende Untersuchung der Metalldoppelsalze des Cuorins anzustellen.

Ich habe aber einen Versuch zur Darstellung der Platinchloridverbindung des Cuorins gemacht.

Ich löste 3,5 g Cuorin in ca. 30 ccm reinem Äther. Zu dieser Lösung setzte ich 12 ccm einer 10%igen alkoholischen Platinchloridlösung. Hierdurch entstand ein blaßgelber Niederschlag. Die Fällung wird durch Zusatz von Alkohol beschleunigt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit absolutem Alkohol gewaschen. Beim Abdampfen des Äthers entstand ein weiterer Niederschlag, welcher bei der Analyse aber nicht mitgenommen wurde. Das Filtrat des Platinchloridniederschlages enthielt Platinchlorid. Der sekundäre Niederschlag war jedoch allzu unbedeutend zur Erklärung des Umstandes, daß das Hauptprodukt nur ca. 1,25 g wog. Man steht hier einem Verhältnis gegenüber, welches an den Verlust bei Chlorcadmiumfällung anderer Phosphatide erinnert (siehe später) und der diesen Produkten einen verdächtigen Charakter verleiht.

Der Niederschlag bildet nach dem Trocknen dunkelbraune, harzige, krystallinische Massen, welche sich leicht in Äther lösen und aus diesem wieder mit Alkohol im Überschuß gefällt werden. Das Material reichte nur zu folgenden Bestimmungen:

Platinbestimmung: 0,3836 g gaben 0,0693 g Pt = 18,06% Pt.

Phosphorbestimmung: 0,4113 g verbrauchten 19,22 ccm $n/2$ -Natron
= 2,59% P.

Kjeldahlbestimmung: 0,4632 g verbrauchten 2,10 ccm $n/10$ -H₂SO₄
= 0,64% N.

Das Verhältnis N : P : Pt = 1 : 1,84 : 2,04.

Es ist leider nicht möglich gewesen, diese Bestimmungen durch andere Analysen zu korrigieren und zu ergänzen, und eine einzelne N-Bestimmung mit so geringer Menge einer so stickstoffarmen Substanz ergibt natürlich nur ein unzuverlässiges Resultat. Es läßt sich deshalb nur schließen, daß das Verhältnis N : P = 1 : 2 wahrscheinlich bewahrt ist, und daß die Verbindung wahrscheinlich 2PtCl₄-Gruppen enthält.

Aufklärungen über die Konstitution des Cuorins lassen sich durch das Studium der Abbauprodukte desselben gewinnen. Mittels Verseifung und Titrieren der freigemachten Fettsäuren ist auf leichte Weise die Anzahl der Fettsäureradikale im Cuorin zu bestimmen. Verseift man p Gramm Cuorin (Molekülge-

wicht M), so erhält man, wenn jedes Molekül x Fettsäuregruppen enthält, $x \cdot \frac{p}{M}$ Fettsäuremole. Verbraucht man nun zum Titrieren derselben n Kubikzentimeter normaler Alkalilösung, so erhalten wir $x \cdot \frac{p}{M} = \frac{n}{1000}$, demnach

$$x = \frac{n \cdot M}{1000 p}.$$

Ist daher das Molekulgewicht des Cuorins bekannt und läßt sich die Verseifung vollständig durchführen, so ist die Berechnung leicht. Die Prozeduren werden, soweit möglich, in einer Kohlensäureatmosphäre ausgeführt, um eine Oxydation der Fettsäuren zu vermeiden.

Man verfährt folgendermaßen:

Die abgewogene Substanz wird in einen kleinen Rundkolben gebracht und 4 Stunden mit alkoholischer Kalilauge gekocht. Allmählich mit dem Abdestillieren des Alkohols (trotz der Anwendung eines Rückflußkühlers) wird wässrige Kalilauge zugesetzt. Schließlich wird der Alkohol unter Zusatz von Wasser weggekocht, wonach noch $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht wird. Nach Abschluß des Kochens ist die Flüssigkeit vollständig klar, von hellgelber Farbe. Nach dem Abkühlen wird mit HCl übersättigt, wodurch die Seifen zerlegt werden. Die Fettsäuren werden mit Äther in Scheidetrichter unter Kohlensäure ausgeschüttelt. Die wässrige, fast ungefärbte, salzsaure Lösung wird abgezapft, während die ätherische Fettsäurelösung so lange mit Wasser gewaschen wird, bis das Waschwasser neutral reagiert. Die Fettsäurelösung wird unter CO_2 filtriert, der Äther abdestilliert, wonach die Säuren im Vakuumtrockenschrank bei $60\text{--}70^\circ \text{C}$. unter CO_2 -Durchleitung bei niedrigem Druck getrocknet werden, bis das Gewicht konstant wird. Vor dem Titrieren werden die abgewogenen Säuren in Ätheralkohol gelöst, die Lösung durch Kochen von CO_2 befreit und mit Wasser und reinem neutralem Alkohol verdünnt. Das Titrieren wird mit $\frac{n}{10}$ -Natron mit Phenolphthalein als Indikator vorgenommen.

3 Analysen gaben folgende Resultate (die Bezeichnungen wie bei obenangeführter Formel).

	p	Fettsäuren	n	M	x
Präparat II	1,770 g	1,140 g = 64,40%	3,80 ccm ¹⁾	1389,7	2,98
—	1,181 »	0,751 » = 63,62%	2,439 » ²⁾	—	2,87
Präparat III	1,512 »	0,963 » = 63,74%	3,145 » ³⁾	—	2,89

Hiernach muß das Cuorinmolekül 3 Fettsäuregruppen enthalten.

Die Fettsäuren erwiesen sich phosphorfrei und gaben keine N-Reaktion (Lassaignes Probe), weshalb das Vorhandensein unverseiften Phosphatids ausgeschlossen ist. Die gewonnenen Säuremengen (s. o.) repräsentieren durchschnittlich 63,92% der verseiften Cuorinmenge.

Die Elementaranalyse der Fettsäuren (die Verbrennung wird in Porzellanschiffen vorgenommen) ergab bei 2 verschiedenen Darstellungen folgende Resultate:

0,2280 g gaben 0,2336 g H₂O = 11,41% H und 0,6494 g CO₂ = 77,69% C
 0,1661 » » 0,1733 » » = 11,61% » » 0,4717 » » = 77,47% » »

Aus dem durch die Spaltung einer gewissen Cuorinmenge gefundenen Gewicht der Säuremenge läßt sich deren Durchschnittsmolekulgewicht berechnen, da das Molekulgewicht des Cuorins nach obenstehenden Analysen bekannt ist (1390). Wird diese Zahl der Berechnung der obenangeführten Analyse der Fettsäuren zugrunde gelegt, so bekommen wir, indem wir uns erinnern, daß es 3 Säuremoleküle gibt, die empirische Formel: C₁₉H₃₄O₂. Diese ist ein Ausdruck für die Durchschnittszusammensetzung der 3 Fettsäuren.

Die Jodzahlbestimmung für die Fettsäuren ergab: 130,1 (nach v. Hübl).

Die Schmelzpunktbestimmung (Schmelzen in Kapillarrohren) ergab für die Fettsäuren einen Schmelzpunkt bei 47—48° C.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß das Cuorin 3 Fettsäureradikale enthält. Diese Fettsäuren

¹⁾ 0,720 g verbrauchten 24,0 ccm n/10-Natron.

²⁾ 0,2019 » » 6,56 » »

³⁾ 0,7457 » » 24,36 » »

haben einen verhältnismäßig niedrigen Schmelzpunkt. Ihr niedriger Wasserstoffgehalt und ihre hohe Jodzahl (die angeführte Bestimmung ist ja eher zu niedrig) deuten darauf, daß die Säuren entweder ganz oder teilweise der Linolsäurereihe angehören ($C_nH_{2n-4}O_2$) oder sogar teilweise der Linolensäurereihe ($C_nH_{2n-6}O_2$). Es ist ganz gewiß möglich, daß auch Ölsäure in der Mischung sich findet; jedoch würde diese allein nicht die Jodzahl so hoch bringen können. Das eingehendere Studium der Fettsäuren weist besondere Schwierigkeiten auf. Nachdem sich Varrentrapps Methode¹⁾ zur Trennung der Bleisalze der Fettsäuren als ganz unzuverlässig erwiesen hat,²⁾ wenn es sich allein um Ölsäure, Stearinsäure und Palmitinsäure handelt, und sie noch nicht von durchgeprüften Methoden ersetzt ist, hat es keinen Zweck, Säuren in einem so sparsam zur Verfügung stehenden Material isolieren zu versuchen.

Gegenüber Thudichums Angabe, daß es Phosphatide gibt, welche nicht Phosphorsäure als Glycerinphosphorsäure enthalten, ist die Aufklärung von Interesse, inwiefern sich unter den Spaltungsprodukten des Cuorins Glycerinphosphorsäure nachweisen läßt. Dies scheint durch folgenden Versuch gelungen zu sein.

Das Cuorin wird mit alkoholischer KOH verseift, und die Fettsäuren auf oben angeführte Weise nach Übersättigung mit HCl und Ausschütteln mit Äther entfernt. Die salzsaure, wässrige Lösung wird neutralisiert, auf dem Wasserbad abgedampft und in Wasser gelöst. Eine geringe Menge gelatinösen Niederschlags wird abfiltriert. Das klare, gelbliche und etwas zähflüssige Filtrat ist leicht sauer. Es wird mit Barytwasser neutralisiert, worauf Chlorbaryum im Überschuß zugesetzt wird. Hierdurch entsteht ein weißer Niederschlag, der wesentlich aus phosphorsaurem Baryt besteht.³⁾ Nach Abfiltrieren des Baryt-

¹⁾ Trennung auf Basis der Ätherlöslichkeit des Bleioleats.

²⁾ Herman Jaeckle, Über die Zusammensetzung des menschlichen Fettes, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 53.

³⁾ Den Umstand, daß sich nach energischer Verseifung, außer den glycerinphosphorsauren, phosphorsaure Alkalien vorfinden, kennt man auch betreffs des Lecithins und braucht daher nicht als Beweis für eine direkte Apposition der Phosphorsäure im Cuorinmolekül aufgefaßt zu werden.

niederschlags wird das Filtrat mit Essigsäure neutralisiert, worauf bis auf 60° C. erwärmt und Bleiacetatlösung zugesetzt wird. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, während die Flüssigkeit noch heiß ist. Der Niederschlag wird mit heißem Wasser auf dem Filter gewaschen, solange das Waschwasser Chlorreaktion gibt (Chlorblei). Der restierende weiße Niederschlag wird getrocknet. Er gibt beim Schmelzen mit saurem schwefelsauren Kali charakteristischen Acroleingeruch und die Dämpfe schwärzen mit ammoniakalischem Silbernitrat benetztes Papier. Nach der Säureveraschung erhält man starke Phosphorsäurereaktion. Die Verbindung ist in heißem Wasser nicht ganz unlöslich. (Das Waschwasser gibt nach der Säureveraschung P_2O_5 -Reaktion.)

Es scheint zweifellos, daß diese, in heißem Wasser schwerlösliche, chlorfreie Bleiverbindung, welche Glycerin und Phosphorsäure enthält, nachdem freies Glycerin und freie Phosphorsäure vollständig entfernt sind, glycerinphosphorsaures Blei sein muß.

Mit Rücksicht auf den zweifelsohne vorhandenen basischen Bestandteil des Cuorins ist wegen der zu diesen Untersuchungen erforderlichen großen Substanzmengen nur eine einzelne Untersuchung gemacht.

Das Cuorin wird durch mehrstündiges Kochen mit Barytwasser auf dem Wasserbad verseift. Die Barytseifen werden abfiltriert. Das Filtrat wird mit Wasser verdünnt und der Barytüberschuß mit CO_2 gefällt. Das Baryumcarbonat wird abfiltriert, worauf das Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft wird. Der Eindampfungsrückstand wird mit absolutem Alkohol extrahiert, wobei die Hauptmenge (glycerinphosphorsaures Baryt) ungelöst verbleibt, während der Alkohol die Base auflöst. Dem gelbgefärbten, alkoholischen Filtrat wird alkoholische Platinchloridlösung zugesetzt, solange noch ein Niederschlag hervorgerufen wird. Der gelbliche Niederschlag wird abfiltriert und mit absolutem Alkohol gewaschen; darauf wird er in Wasser gelöst. Bei langsamem Abdampfen der wässerigen Lösung im Exsikkator krystallisiert das Platindoppelsalz aus als regelmäßige, orange-gelbe Krystalle, fast ausschließlich Oktaeder. Sie sind schwerer löslich als das Cholinplatinchlorid, neigen nicht wie dessen Krystalle zum Zusammenfließen zu großen Konglomeraten,

und namentlich sieht man keine Andeutungen hexagonaler Tafeln. Der Ertrag aus $2\frac{1}{2}$ g Cuorin war nur ca. 11 cg. Beim Glühen entwickelt sich deutlich Trimethylamingeruch. Nach Auslaugen des Glührückstandes mit verdünnter HCl und warmem Wasser und Glühen zu konstantem Gewicht findet man einen Platingehalt von 37,26 % Pt.

Selbst wenn dieser einen Bestimmung kein großes Gewicht beizumessen ist, so ist die Platinmenge doch so bedeutend höher als die des salzsauren Cholinplatinchlorids (31,64 % Pt), daß es in Verbindung mit dem abweichenden Charakter und Löslichkeit der Krystalle dafür spricht, daß die Base des Cuorins nicht mit dem Cholin identisch ist.

Die Darstellung ist wie angedeutet mit Verlust verbunden, ein Verhältnis, das von der Cholindarstellung des Lecithins bekannt ist. Da es sich nicht um das Verschwinden flüchtiger Basen handelt (worüber ich mich durch einen Versuch überzeugt habe), muß angenommen werden, daß eine teilweise Zersetzung stattfindet, oder daß die Base zum Teil mit den Barytseifen niedergerissen wird.

Das Cuorin ist nach dem Angeführten als ein Phosphatid aufzufassen, dessen Konstitution wesentlich von der des Lecithins und von den von Thudichum isolierten Phosphatiden abweicht, und dessen Zusammensetzung der Formel $C_{71}H_{125}NP_2O_{21}$ entspricht.

Es muß also als ein Monoamidodiphosphatid aufgefaßt werden, das 3 Fettsäureradikale (gegen 2 im Lecithin), Glycerinphosphorsäure, sowie eine alkaloidartige Base enthält. Die Fettsäuren des Cuorins sind jedenfalls vorwiegend ungesättigt. Es ist denkbar, daß die ausgeprägte Autoxydabilität, welche eine Veränderung der physikalischen Eigenschaften des Cuorins hervorruft, im Zusammenhang mit dessen biologischen Funktionen steht.

Lecithin (c).

Die zweite Hauptgruppe der Phosphatide im Ätherextrakt wird von der in der Übersicht genannten Fraktion c repräsen-

tiert. Diese gehört nach ihrer Zusammensetzung zu den Monophosphatiden mit 1 Atom N: zur Lecithingruppe. Benutze ich in nachfolgendem bezüglich dieses Edukts die Bezeichnung «Lecithin», so geschieht es mehr aus praktischen Rücksichten, und nicht um es mit den Präparaten zu identifizieren, welche insgesamt früher unter diesen Namen gegangen sind, und welchen auf Basis ihres vermuteten Gehalts gesättigter Fettsäuren eine etwas andere Zusammensetzung beigemessen wurde. Da neuere Untersuchungen der Fettsäuren des sogenannten Lecithins indessen ergeben haben,¹⁾ daß diese durchaus nicht nur aus gesättigten Fettsäuren bestehen, so erachte ich mich doch berechtigt zur Benutzung der Bezeichnung Lecithin bezüglich dieses Stoffes,²⁾ der wasserstoffarme Säuren enthält, was auch in seiner Formel Ausdruck findet, der aber übrigens die dem Lecithin insgesamt als charakteristisch beigemessenen Eigenschaften besitzt.

Das Lecithin bildet orangegelbe Massen halbpröder Konsistenz, die sich jedoch einigermaßen zerteilen lassen. In trockenem Zustande fühlt es sich etwas klebrig an. Beim Stehen an der Luft nimmt es mit Begierde Wasser auf, bis es vollständig dickflüssig wird. Das frische Präparat hat einen schwachen, eigentümlichen (nicht ranzigen) Geruch.

Es ist in kaltem, absolutem Alkohol, in Äther, Chloroform, Essigester und Petroleumäther vollständig und klar löslich, während es in Aceton bei gewöhnlicher Temperatur unlöslich oder sehr schwer löslich ist. Gegenüber Wasser verhält es sich auf gleiche Weise, wie es gewöhnlich betreffs des Lecithins beschrieben wird. Es löst sich langsam zu einer trüben, emulsionsartigen Flüssigkeit schleimiger Konsistenz auf. Es gibt mit konzentrierter H_2SO_4 und Zuckersirup Pettenkofers Reaktion. Der Schmelzpunkt läßt sich nicht genau bestimmen, scheint jedoch um $60^\circ C.$ zu liegen. Erst bei Erwärmung auf ca. $110^\circ C.$ fängt die Substanz an braun zu werden und sich zu zersetzen.

¹⁾ Henriques und Hansen, Cousin, l. c.

²⁾ Der Umstand, daß dessen Lösung teilweise mit einer alkoholischen, ammoniakalischen Bleizuckerlösung gefällt wird, könnte aber dafür sprechen, daß es sich hier um eine Mischung einander nahestehender Stoffe der Gruppe der Monoamidomonophosphatide handelt (vergl. Thudichums Myelin).

Die alkoholische Lösung gibt mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung einen voluminösen, weißlichen Niederschlag, der nach dem Auswaschen mit Alkohol in kaltem Benzol löslich ist. Aus der Benzollösung wird die Verbindung von neuem mit Alkohol gefällt. Die frisch gefällte Chlorcadmiumverbindung ist auch bei gewöhnlicher Temperatur in Äther löslich. Nach dem Trocknen scheint sie in kochendem Äther selbst unlöslich zu werden, während die vollständige Löslichkeit in Benzol bewahrt ist, wenn sie einer kurzdauernden Erwärmung mit Benzol unterworfen wird. In dieser Beziehung scheinen die Verhältnisse mit denen identisch zu sein, welche Thudichum¹⁾ für sein Lecithinchlorcadmium angibt, das sich in Benzol erst nach vorhergehender Erwärmung löst.

Die alkoholische Lösung wird auch von alkoholischem Platinchlorid gefällt. Dieser Niederschlag ist jedoch nicht eingehender untersucht.

Da das Lecithin, ebenso wie das Cuorin zu den autoxydablen Substanzen gehört, obwohl die Oxydation hier langsamer vor sich zu gehen und weniger bedeutend zu sein scheint, müssen die Analysen an frischen, schnell hergestellten Präparaten vorgenommen werden, welche in evakuiertem Exsikkator an einem dunklen Ort aufzubewahren sind.

Unter derartigen Vorsichtsmaßregeln ergaben die Analysen folgende Resultate:

Die Analysen des Lecithins.

	Präparat I	Präparat II		Präparat III		Durchschnitt	Atome (P = 1)	Berechnet für $C_{43}H_{80}NPO_9$
	%	%	%	%	%			
C	—	66,19	66,38	66,42	66,17	66,29	43,36	65,70
H	—	10,23	10,24	10,08	10,15	10,17	79,64	10,21
N	1,87	1,84	1,87	1,88	1,90	1,87	1,05	1,79
P	3,87	3,98	4,03	3,94	3,93	3,95	1	3,95
[O]	—	—	—	—	—	17,71	8,69	18,33

¹⁾ l. c. S. 117—119.

Analytische Beilage.

I. Kjeldahlbestimmung:

0,5308 g verbrauchten 7,07 ccm n_{10} -H₂SO₄ = 1,87% N.

Phosphorbestimmung:

0,3239 g verbrauchten 22,65 ccm n_{10} -Natron = 3,87% P.

II. Phosphorbestimmung:

0,3468 g verbrauchten 24,95 ccm n_{10} -Natron = 3,98% P

0,3498 » » 25,45 » » = 4,03% »

Kjeldahlbestimmung:

0,6106 g verbrauchten 8,00 ccm n_{10} -H₂SO₄ = 1,84% N

0,7986 » » 10,70 » » = 1,88% »

Elementaranalyse:

0,1887 g gaben 0,1734 g H₂O = 10,23% H und 0,4579 g CO₂ = 66,19% C

0,1776 » » 0,1633 » » = 10,24% » » 0,4322 » » = 66,38% »

III. Phosphorbestimmung:

0,3675 g verbrauchten 26,15 ccm n_{10} -Natron = 3,94% P

0,3727 » » 26,46 » » = 3,93% »

Kjeldahlbestimmung:

0,7944 g verbrauchten 10,66 ccm n_{10} -H₂SO₄ = 1,88% N

0,7301 » » 9,90 » » = 1,90% »

Elementaranalyse:

0,4100 g gaben 0,3709 g H₂O = 10,08% H und 0,9985 g CO₂ = 66,42% C

0,3807 » » 0,3467 » » = 10,15% » » 0,9235 » » = 66,17% »

Die empirische Formel des Lecithins wurde hier- nach C₄₃H₈₀NPO₉. Bei einem Präparat, welches einige Monate in nichtevakuiertem Exsikkator aufbewahrt war, ergaben die analytischen Resultate die Formel C₄₃H₇₉NPO₁₁. Die Verän- derung, welche dieses Präparat durchgemacht hat, ist daher als eine Oxydation aufzufassen.

Bei der Untersuchung der Jodzahl für frische und oxy- dierte Präparate fand ich folgende Zahlen (nach v. Hübl):

C ₄₃ H ₈₀ NPO ₉ (Präparat II)	{	0,2763 g banden	0,2776 g J	: 100,46
		0,2579 » »	0,2588 » »	: 100,34
C ₄₃ H ₇₉ NPO ₁₁	{	0,2570 » »	0,0752 » »	: 29,26
		0,3504 » »	0,1012 » »	: 28,88

Dies ergibt demnach eine bedeutende Verringerung der jodabsorbierenden Fähigkeit des oxydierten Präparates. Für das

frisch hergestellte Präparat war die Jodzahl also wesentlich größer als die von Henriques und Hansen¹⁾ für das Eilecithin gefundene (71,4); aber ein Vergleich ist doch nicht möglich, da das von diesen Untersuchern untersuchte «Lecithin» eine Mischung verschiedener Phosphatide sein muß, und dessen Zusammensetzung nicht durch Analysen bestimmt ist.

Die Verseifung des Lecithins ergab nicht so befriedigende Resultate, wie es für das Cuorin der Fall war. Obwohl die Verseifung und die Zerlegung der Seifen auf ganz dieselbe Weise ausgeführt wurde, wiesen die Fettsäuren einen geringen Phosphorgehalt auf, welcher von einer unvollständigen Verseifung herrühren muß. Übereinstimmend hiermit wird die Äquivalentberechnung nicht ganz befriedigend, spricht aber doch bestimmt dafür, daß das untersuchte Lecithin, in Übereinstimmung mit der allgemeinen Annahme, 2 Fettsäureradikale enthält.²⁾

	p	Fettsäuren	n	M	x
$C_{43}H_{79}NPO_{11}$	3,025 g	1,971 g = 65,15%	7,13 ccm ³⁾	816,4	1,92
Präparat III	2,00 »	1,41 » = 70,50%	4,48 » ⁴⁾	785,4	1,76

Die Säuren ergaben bei einer einzelnen, mit dem nicht ganz phosphorfreien Präparat angestellten Probe (2. Versuch), eine Jodzahl von 110 (v. Hübl), welche demnach als ein Minimalwert zu deuten ist.

Die Jodzahl für die Fettsäuren des hier untersuchten Lecithins ist mithin höher als die der von Henriques und Hansen untersuchten Lecithinpräparate. Diese fanden nämlich Jodzahlen von 95,7—101,6 für sämtliche Fettsäuren (während die flüchtigen Fettsäuren eine Jodzahl von 153,9 hatten).

Daß es sich — wie im Cuorin — auch hier um überwiegend wasserstoffarme Fettsäuren handelt, dafür spricht außer

¹⁾ l. c. S. 396.

²⁾ Die angewendeten Bezeichnungen sind dieselben wie die bei der Äquivalentberechnung für das Cuorin.

³⁾ 0,5393 g verbrauchten 19,51 ccm n_{10} -Natron

⁴⁾ 0,5149 » » 16,31 » »

der Jodzahl folgende Elementaranalyse, welche an einem etwas phosphorhaltigen Präparat angestellt wurde (III).

0,1341 g gaben 0,1397 g $H_2O = 11,60\%$ H und 0,3772 g $CO_2 = 76,74\%$ C.

Die hieraus berechnete Durchschnittszusammensetzung der Fettsäuren wird $C_{18}H_{32}O_2$ (Atome C: 17,59, H: 31,82, O: 2,05).

Bei der Schmelzpunktbestimmung wurde der Schmelzpunkt der Säuren (Präp. III) bei $44-45^\circ C.$ gefunden.

Durch Verseifung mit Barytwasser gelang es, Cholin und Glycerinphosphorsäure auf folgende — von Strecker angegebene — Methode nachzuweisen. Nach der Verseifung werden die Baryumseifen abfiltriert, worauf das Filtrat mit Kohlensäure übersättigt wird, um restierendes Baryum zu entfernen.

Nach dem Abfiltrieren des Baryumcarbonats wird auf dem Wasserbad eingedampft. Der Eindampfungsrückstand wird mit absolutem Alkohol extrahiert.

1. Die alkoholische Lösung wird mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt. Der hellgelbe Niederschlag wird sorgfältig mit absolutem Alkohol gewaschen, in Wasser gelöst und in den Exsikkator über H_2SO_4 zur Krystallisation gestellt. Hierdurch entstehen orangefarbige, bis zu 1—2 cm große Krystallkonglomerate, welche sich makroskopisch als ziegelförmige, polygonische Tafeln zeigen. Mikroskopisch erkennt man die kleineren Krystalle hauptsächlich als sechsseitige Tafeln. Eine Platinbestimmung ergab $31,81\%$ Platin, während Cholinplatinchlorid $31,64\%$ Platin erfordert. Es kann darüber kein Zweifel herrschen, daß es sich hier um Cholinplatinchlorid handelt, da alle Eigenschaften mit denen des Cholinplatinchlorids¹⁾ übereinstimmen. Durch diese Versuche ließen sich Heffters²⁾ Angaben über die großen Verluste bei der Cholindarstellung bestätigen. Während es aber Heffter nur gelang, 25% der berechneten Platindoppelsalzmenge zu gewinnen, erzielte ich in einem zu diesem Zweck angestellten Versuch einen Ertrag von ca. 42% .

¹⁾ Vergl. Gulewitsch, «Über Cholin und einige Verbindungen desselben», Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 513, Bd. XXVI, S. 175.

²⁾ l. c.

Heffter gibt an, schon bei der Verseifung Trimethylamingeruch verspüren zu können, und er vermochte sowohl bei Verseifung mit KOH, wie mit Barytwasser Entwicklung alkalischer (ammoniakalischer) Dämpfe zu konstatieren, welche deutlich auf Lackmuspapier reagierten.

Inwiefern der bedeutende Verlust allein darauf zurückzuführen ist, daß das Cholin während der Verseifung teilweise gespalten wird und als flüchtige Verbindungen verloren geht, ist unsicher, erscheint mir jedoch aus verschiedenen Gründen¹⁾ unwahrscheinlich. Wenn Gulewitsch²⁾ behauptet, Cholinlösungen können längere Zeit mit Barytwasser gekocht werden, ohne daß die als Platindoppelsalz gewonnene Cholinmenge verringert wird, so gilt dies nicht, falls das Cholin vor der Verseifung als Lecithinbestandteil vorhanden ist. Hier machen sich Verhältnisse geltend, welche eine quantitative Gewinnung des Cholins hindern, so daß man mit Heffter den Versuch aufgeben muß, auf diesem Wege eine quantitative Lecithinbestimmung zu erzielen.

2. Der alkoholunlösliche Teil des Eindampfungsrückstandes wird in Wasser gelöst, filtriert und zur Abdampfung in den Exsikkator gestellt. Der Rückstand bildet braungelbe, glänzende Krystalschuppen. Sie geben starke Acroleinreaktion, enthalten bedeutende Mengen Phosphorsäure und Baryum. Diese wasserlösliche, phosphorhaltige Baryumverbindung muß wesentlich aus glycerinphosphorsaurem Baryum bestehen. Wünscht man durch quantitative Analyse das Vorhandensein von Glycerinphosphorsäure zu kontrollieren, so stelle man die Bleiverbindung oder Calciumverbindung der Glycerinphosphorsäure her, deren Zusammensetzung mehr konstant sein soll.³⁾ Auf das oben hergestellte unreine glycerinphosphorsaure Baryum gaben die Analysen sowohl für P wie für Ba wesentlich zu niedrige Zahlen.

¹⁾ Versuche mit Titrieren der während der Verseifung wegdestillierten Basen ergab wohl, daß basische Verbindungen übergingen, jedoch war die Menge nur gering.

²⁾ l. c.

³⁾ Thudichum und Kingzett, Chem. Soc. J. 1876, 2, 20.

Dieses Spaltungsprodukt läßt sich auch nicht quantitativ gewinnen, wovon ich mich durch besondere Versuche überzeugt habe. Dies kann, wie schon Strecker¹⁾ angedeutet hat, darauf beruhen, daß eine tiefere Spaltung der Glycerinphosphorsäure stattfindet, wobei sich während der Verseifung phosphorsaure Alkalien bilden, oder daß ein Teil des glycerinphosphorsauren Baryums mit den Baryumseifen mitgerissen wird. Die abfiltrierten Baryumseifen enthielten konstant Phosphor.

Es erscheint mithin nicht wahrscheinlich, daß man durch quantitative Bestimmungen der charakteristischen Verseifungsprodukte des Lecithins eine quantitative Lecithinbestimmungsmethode erreichen kann. Verseifung mit Natriumalkoholat bei gewöhnlicher Temperatur wurde auch versucht, erwies sich aber in dieser Beziehung nicht vorteilhafter.

Abgesehen von der Wasserstoffarmut der darin enthaltenen Fettsäuren und deren Ausdruck in der empirischen Molekularformel haben alle Untersuchungen des Lecithins des Herzens (c) dieselben Eigenschaften und dieselben Spaltungsprodukte gegeben, welche gewöhnlich «dem Lecithin» beigemessen werden.

Versucht man die Formel aus den Spaltungsprodukten abzuleiten (nach der von Strecker angegebenen Weise 1 Molekül Glycerinphosphorsäure + 2 Molekül Fettsäure + 1 Molekül Cholin ÷ 3 Molekül Wasser) erhält man

$$\text{C}_3\text{H}_9\text{PO}_6 + \text{C}_{35}\text{H}_{64}\text{O}_4 + \text{C}_5\text{H}_{15}\text{NO}_2 \div 3 \text{H}_2\text{O} = \text{C}_{43}\text{H}_{82}\text{NPO}_9$$

was annähernd mit dem bei den Analysen direkt gefundenen übereinstimmt ($\text{C}_{43}\text{H}_{80}\text{NPO}_9$).

Wie oben erwähnt, hat die Chlorcadmiumverbindung denselben Charakter wie Thudichums Lecithinchlorcadmium. Das feine blaßgelbe Pulver läßt sich nach Exsikkatortrocknung erst in Benzol nach Erwärmung lösen, hält sich jedoch später in Benzol bei gewöhnlicher Temperatur gelöst. Es fiel mir sofort hier, wie überall, wo Chlorcadmium als Fällungsmittel angewendet ist, auf, daß die Fällung nicht annähernd quantitativ war. Dies wird auffälliger, wo das Ausgangsmaterial wie hier ein anscheinend reines Phosphatid ist, und daher

¹⁾ l. c.

kommt es vielleicht, daß keiner früher auf dieses Verhältnis aufmerksam gemacht hat. Der Verlust war keineswegs gering.

5 g frisch dargestellten Lecithins (c, Präp. III) ergaben einen Ertrag von ca. 4,65 g der Chlorcadmiumverbindung, was 66,35% der angewendeten Lecithinmenge entsprechen würde. Hieraus folgt, daß bei der Darstellung ca. $\frac{1}{3}$ verloren gegangen ist. Dies kann nun darauf beruhen, daß die Verbindung nicht ganz unlöslich in absolutem Alkohol ist, womit sie sorgfältig ausgewaschen wird, oder daß eine Abspaltung einer in der Lösung verbliebenen organischen Atomgruppe stattgefunden hat. Ich komme später auf dieses Verhältnis zurück, das von den vorgenommenen Analysen beleuchtet wird, deren Resultate aus untenstehender Übersicht hervorgehen.

	1.		2.	Durchschnitt %	Atome (P = 1)	Berechnet für $C_{37}H_{69}NPO_8 + 1,5 CdCl_2$ %
	%	%	%			
C	45,65	45,67	—	45,66	37,00	46,22
H	7,09	7,05	—	7,07	68,55	7,20
N	1,46	1,46	—	1,46	1,01	1,46
P	3,20	—	3,18	3,19	1	3,23
Cd	17,52	17,53	17,53	17,54	1,52	17,50
[Cl]	—	—	—	11,09	3,04	11,07
[O]	—	—	—	13,99	8,50	13,32

Dieses Resultat war in verschiedenen Beziehungen recht überraschend. Anstatt einer Verbindung, in welcher das Verhältnis $P : N : CdCl_2 = 1 : 1 : 1$ war (so wie Thudichum für Lecithinchlorcadmium gefunden hat), war das Verhältnis $P : N : CdCl_2 = 1 : 1 : 1,5$. Aber gleichzeitig war der organische Teil der Verbindung verändert, indem sich anstatt $C_{43}H_{80}NPO_9$ die Zusammensetzung $C_{37}H_{69}NPO_8$ ergab. Während somit der Charakter eines Monoamidomonophosphatids unverändert geblieben war, enthielt die Chlorcadmiumverbindung $CdCl_2$ in einem Verhältnis, welches keine der Monophosphatide Thudichums aufgewiesen hat. Sowohl Lecithin, Kephalin und Paramyelin verbinden sich nach Thudichum mit 1 Molekül $CdCl_2$, und es geht nicht aus

seinen Resultaten hervor, daß dieses Verhältnis schwankend gewesen ist. Dahingegen sind die Resultate anderer Forscher abweichender gewesen. Streckers¹⁾ Lecithinpräparat enthielt wechselnde Mengen Cd (von 13,07% bis 15,20% schwankend), und Ulpiani²⁾ fand in seinem, nach Streckers Methode hergestellten Präparat einen Cadmiumgehalt von durchschnittlich 13,92%. Ulpianis Präparat (nach seinen Analysen berechnet) wies das Verhältnis $N : P : CdCl_2 = 1 : 1 : 1,25$ ³⁾ auf. Die Schwierigkeit, welche hierdurch mit Rücksicht auf die Berechnung der molekularen Zusammensetzung des Lecithins entsteht, überwinden Strecker und Ulpiani, indem sie die Zusammensetzung nach Abzug des $CdCl_2$ berechnen.

Seien auch Ulpianis Präparate eine Mischung verschiedener Phosphatide, so müssen dies jedoch Monophosphatide sein, indem seine Analysen zu der Formel $C_{42}H_{83}NPO_9$ führen. Thudichum ist mithin der einzige Forscher, der das einfache Verhältnis zwischen Lecithin und $CdCl_2$, das seine Formeln angeben, gefunden hat. In meinem Präparat ist das Verhältnis zwischen Phosphatid und $CdCl_2$ also genau 2 : 3.

Der Unterschied zwischen Präp. III und dem organischen Teil der daraus hergestellte $CdCl_2$ -Verbindung ließe sich vielleicht dadurch erklären, daß sich 2 Lecithinmoleküle mit 3 $CdCl_2$ -Molekülen unter Abspaltung einer organischen Atomgruppe verbunden hätten. Indessen ist dies momentan nicht zu einer Erörterung geeignet. Diesem voraus muß eine eingehendere Untersuchung der Rolle gehen, welche $CdCl_2$ in ihren Verbindungen mit den Phosphatiden spielt. Diese Frage läßt sich aber nicht mit Aussicht auf wirklichen Erfolg aufnehmen, bevor man im Besitze von Methoden ist, welche, ohne Zersetzungen hervorzurufen, die Phosphatide aus ihren $CdCl_2$ -Verbindungen wieder freimachen vermögen. Ohne dies wird es ja auch nicht möglich sein, die im Filtrat des $CdCl_2$ -Niederschlages vorkommenden

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

³⁾ Das Verhältnis war nicht (wie in Chem. Zentralblatt 2, S. 30, 193, und Hammarsten, Lehrbuch d. physiol. Chem., 1904, S. 22, referiert) 3 Mol. Lecithin : 4 Mol. $CdCl_2$.

Stoffe zu studieren und sich einen Begriff davon zu machen, inwiefern CdCl_2 in Wirklichkeit ein so indifferentes Reinigungsmittel ist, wie Strecker und Thudichum angenommen haben. Unter der Besprechung der Diamidophosphatide (siehe das Alkoholextrakt) werde ich auf die vergeblichen Versuche zurückkommen, welche ich mit Hilfe der verschiedenen Regenerationsmethoden angestellt habe, um die Phosphatide aus ihren CdCl_2 -Verbindungen zu isolieren. Es wird dann auch von Interesse sein, an die eigentümliche Veränderung zu erinnern, welche die CdCl_2 -Fällung in der Zusammensetzung des hier beschriebenen Phosphatids hervorrief, und welche Zweifel aufkommen ließ, inwiefern sich dieses ganz mit aus anderen Organen hergestelltem Lecithin identifizieren läßt.

Das Alkoholextrakt.

Erinnert man sich der Prinzipien für die klassischen Methoden (Hoppe-Seyler, Diakonow usw.) zur Darstellung des Lecithins, bei denen das nach vorausgehender Ätherbehandlung gewonnene Alkoholextrakt die Grundlage für die Darstellung bildete, so wird es verständlich, daß auch ich beim Beginn dieser Untersuchungen hierauf das Hauptaugenmerk richtete.

Die Anwendung der anscheinend so gemeingültigen Methoden ergab jedoch wenig befriedigende Resultate, indem die durch diese Methode gewonnenen Produkte wesentlich von dem von der Hoppe-Seylerschen Schule charakterisierten Lecithin abwichen. Erst durch langwierige, systematische Untersuchungen kam ich zu dem Resultate, daß die Unbrauchbarkeit der alten Methoden die Schuld an den abweichenden Resultaten trägt. Der Schätzung dieser noch vielfach angewandten Methoden wegen muß ich kurz die mit diesen angestellten Versuche zur Lecithindarstellung aus dem Alkoholextrakt skizzieren.

Die Darstellungsschwierigkeiten gehen auf verschiedene Weise auch aus den älteren Untersuchungen hervor.

Ich berührte bei der Besprechung derselben, daß die Methoden kaum konstante Resultate gäben, und daß sie keineswegs quantitativ seien, indem die Aufmerksamkeit wesentlich

darauf gerichtet wäre, eine Fraktion zu gewinnen, welche genügend hohen Phosphorgehalt hätte, um für Lecithin gerechnet werden zu können. Man muß sich darüber wundern, daß es nicht genügend klar aus den die Reindarstellung des Lecithins verfolgenden Untersuchungen herorgeht, welche Schwierigkeiten vorliegen. Und es läßt sich nur dadurch erklären, daß die Methoden unbestritten bestehen blieben, weil sie selten durch Analysen und namentlich nicht durch N-Bestimmungen kontrolliert wurden.

Jeder, der sich bestimmt die Frage über die Allgemeinwendbarkeit der Hoppe-Seylerschen Lecithindarstellungsmethode gestellt hätte, müßte zu dem Standpunkt gelangt sein, den Thudichum schon seit langem gegenüber dieser Methode eingenommen hat. Rubow hat aus dem Myocardium nur Produkte mit niedrigerem Phosphorgehalt und höherem N-Gehalt (3,3—3,4% P, 2,3—2,4% N) als das Lecithin gewonnen. Diese Resultate sind mit Recht als übereinstimmend mit Thudichums Angaben gedeutet, indem Rubow meint, daß das analysierte Produkt als eine Mischung von Monophosphatiden mit einem und 2 Atomen Stickstoff zu betrachten ist.

Und das Myocardium verhält sich in dieser Beziehung kaum anders als andere Gewebe. Sogar die häufig untersuchten Hühnereidotter werden bei sorgfältiger Untersuchung das Resultat ergeben, daß das Lecithin des Alkoholextraktes nicht dem angegebenen entspricht, sondern mehr Stickstoff enthält. Nach Abdampfen des Alkoholextraktes des Herzens, Lösen des Abdampfungsrückstandes in einer geringen Äthermenge, Filtrieren und Fällung der konzentrierten Ätherlösung mit kaltem, wasserfreiem Aceton konnte auch ich ein Produkt mit ähnlichem P- und N-Gehalt wie das von Rubow hergestellte gewinnen. Die Analysen ergaben durchschnittlich 3,40% P und 2,26% N.

Lösung in Chloroform und Fällung hieraus mit Aceton ergab ein Produkt von annähernd derselben Zusammensetzung. Es schien demnach, als ob man zur Reinigung des Lecithins andere Wege einschlagen mußte, weshalb ich Diakonows Methode (Fraktioniertes Ausfrieren des Alkoholextraktes) versuchte.

Das bei diesen Versuchen angewendete Alkoholextrakt war nach einer ziemlich kurz dauernden primären Ätherextraktion des Muskelpulvers gewonnen, so daß eine geringe Beimischung von direkt ätherlöslichen Phosphatiden nicht ganz ausgeschlossen war.

Nach dem Filtrieren werden die alkoholischen Extrakte 24 Stunden bei einer Temperatur von $+2^{\circ}\text{C}$. hingestellt, wobei ein flockiger weißer Niederschlag (A) entsteht. Nach dem Filtrieren bei dieser Temperatur wird das Filtrat bei -2°C . in den Kühlschrank gestellt. Der hierdurch nach 24stündigem Stehen entstandene Niederschlag (B) wird abfiltriert und bei derselben Temperatur mit Alkohol gewaschen. Das Filtrat wird $\frac{1}{2}$ —1 Stunde einer Abkühlung von -15° — -16°C . ausgesetzt. Der hierdurch entstandene Niederschlag (C) wird schnell im Kühlschrank abfiltriert, das Filtrat wird nach dem Eindampfen bis zu ungefähr $\frac{1}{3}$ einem neuen Ausfrieren bei ca. -15°C . unterworfen. Der hierbei entstandene Niederschlag wird mit C vereint. Das Filtrat wird unter der Luftpumpe abgedampft, in einer geringen Chloroformmenge gelöst und aus dieser mit Aceton gefällt (D). Die Acetonfällung wird in 2 Fraktionen vorgenommen, wodurch der letzte Niederschlag für sich gehalten wird (E). Die Verteilung der phosphorhaltigen Substanzen in den Fraktionen wird durch folgende Übersicht illustriert, welche gleichzeitig Aufklärung über die ungefähren Mengenverhältnisse bei einem derartigen Versuch gibt.

	Gewicht	P-Gehalt	N-Gehalt
A	ca. 2 g	Spuren	—
B	» 2,3 »	1,62%	—
C	» 5,75 »	3,40%	1,98%
D	» 9 »	3,00%	—
E	» 1,5 »	3,83%	—

Die einzelnen Fraktionen sind, nach dem Trocknen im Vakuum über H_2SO_4 , ohne fernere Reinigung analysiert. Der Versuch zeigt, daß die lecithinartigen Substanzen sich wesentlich in den Fraktionen C, D und E vorfinden; aber gleichzeitig, daß sie bei weitem nicht alle bei einer Temperatur von -15°C . aus der alkoholischen Lösung gefällt werden können. Hierdurch werden die Erfahrungen bekräftigt, welche Diakonow bei seinen

späteren Versuchen selbst machte. Keine der Fraktionen enthielt aber Phosphor in so großen Mengen, daß sie als einigermaßen reines Lecithin aufgefaßt werden konnte, Fraktion E ausgenommen, die so geringe Teile der ganzen Menge repräsentiert, daß es aufgegeben werden mußte, unter Beihilfe dieser Erfahrung eine brauchbare Methode zur Reindarstellung des Lecithins auszubilden.

Die Fraktion D wird versuchsweise zur Darstellung einer CdCl_2 -Verbindung benutzt, aus welcher wieder nach Bergells Methode (Schulze und Wintersteins Modifikation) das Lecithin regeneriert wird.

Der mit Alkohol ausgewaschene CdCl_2 -Niederschlag wird getrocknet und pulverisiert, worauf er in einer Filtrierpapierpatrone einige Stunden in Soxhlets Extraktionsapparat mit Äther extrahiert wird. Hierdurch verringert sich seine Menge bedeutend. Die Verbindung wird hiernach durch Kochen mit Alkohol und kohlensaurem Ammoniak zerlegt. Die abfiltrierte alkoholische Lösung wird bei 45°C . unter der Luftpumpe eingedampft. Der Eindampfungsrückstand wird mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen, worauf mit kaltem Aceton gefällt wird. Das hierdurch gewonnene Produkt ist braungelb, leicht löslich in Äther und Benzol, aber nicht klar löslich in kaltem Alkohol und Petroleumäther, ebenfalls ist es unlöslich in kaltem Essigester. Nach dem Trocknen ergab die Analyse folgende Resultate:

Phosphorbestimmung:

0,3153 g	verbrauchten	22,46 ccm	$n/2$ -Natron	=	3,94%	P
0,3261 »	»	23,64 »	»	=	4,01%	»

Kjeldahlbestimmung:

0,7192 g	verbrauchten	11,12 ccm	$n/10$ - H_2SO_4	=	2,17%	N
0,6356 »	»	9,77 »	»	=	2,16%	»

Auf diese Weise gewann man also ein Produkt, dessen Phosphorgehalt so hoch war, daß ohne andere Untersuchungen hätte angenommen werden müssen, es handle sich um Lecithin. Indessen waren sowohl die physikalischen Verhältnisse abweichend, wie auch der N-Gehalt bedeutend höher als der des Lecithins war ($\text{P} : \text{N} = 1 : 1,2$).

Es läßt sich aus diesen Versuchen schließen, daß das Alkoholextrakt tatsächlich Phosphatide mit relativ hohem N-Gehalt enthält, und daß Diakonows Methode nicht allgemein brauchbar ist, weder als eine einigermaßen zuverlässige quantitative Methode zur Gewinnung von Phosphatiden noch zur Reindarstellung derselben.¹⁾ Zu diesem Zweck muß man andere Wege einschlagen, und aus dem letztgenannten Versuch schien hervorzugehen, daß dies durch die von Strecker angegebenen Fällungsmethoden geschehen mußte.

Indessen habe ich noch eine Reihe Versuche auf Trennung der Bestandteile des Extraktes nach deren Löslichkeitsverhältnissen angestellt. Das Alkoholextrakt wurde im Vakuum eingedampft, worauf es mit Äther behandelt wurde. Hierbei geht die Hauptmenge in Lösung, während ein kleiner, weißer Rest ungelöst verbleibt. Dieser Rückstand läßt sich mittels der Zentrifuge leicht entfernen, setzt sich jedoch bei ca. 24stündigem Stehen vollständig. Die Ätherlösung wird unter der Luftpumpe zu dünner Sirupkonsistenz eingedampft und mit Aceton gefällt. Der Niederschlag wird in absolutem Alkohol gelöst. Das Filtrat wird abgedampft und ist nun in Äther vollständig klar löslich. Die Ätherlösung gibt beim Zusatz absoluten Alkohols eine Trübung, welche bei weiterem Alkoholzusatz verschwindet. Dieser Umstand wird später besonders besprochen werden.

Dieser in Alkohol und Äther klar lösliche Teil des Acetonniederschlages, von dem man erwarten sollte, daß er einigermaßen reines Phosphatid sei, hatte indessen in diesem Versuch einen P-Gehalt von 3,06% und einem N-Gehalt von 3,12% (P : N = 1 : 2,16). Mit diesem Produkt wurden weitere Reinigungsversuche durch Entfernung des in der (zu \div 2° C.) abgekühlten Ätherlösung unlöslichen Teils angestellt. Hierdurch wurde wohl der P-Gehalt auf 3,38% gebracht, während der N-Gehalt 2,65% wurde.

Bei fraktionierter Fällung der konzentrierten Ätherlösung mit Aceton ergab die erste Fraktion (bei gleichen Teilen Aceton und Äther) 3,01% P und 3,45% N, während die letzte Fraktion

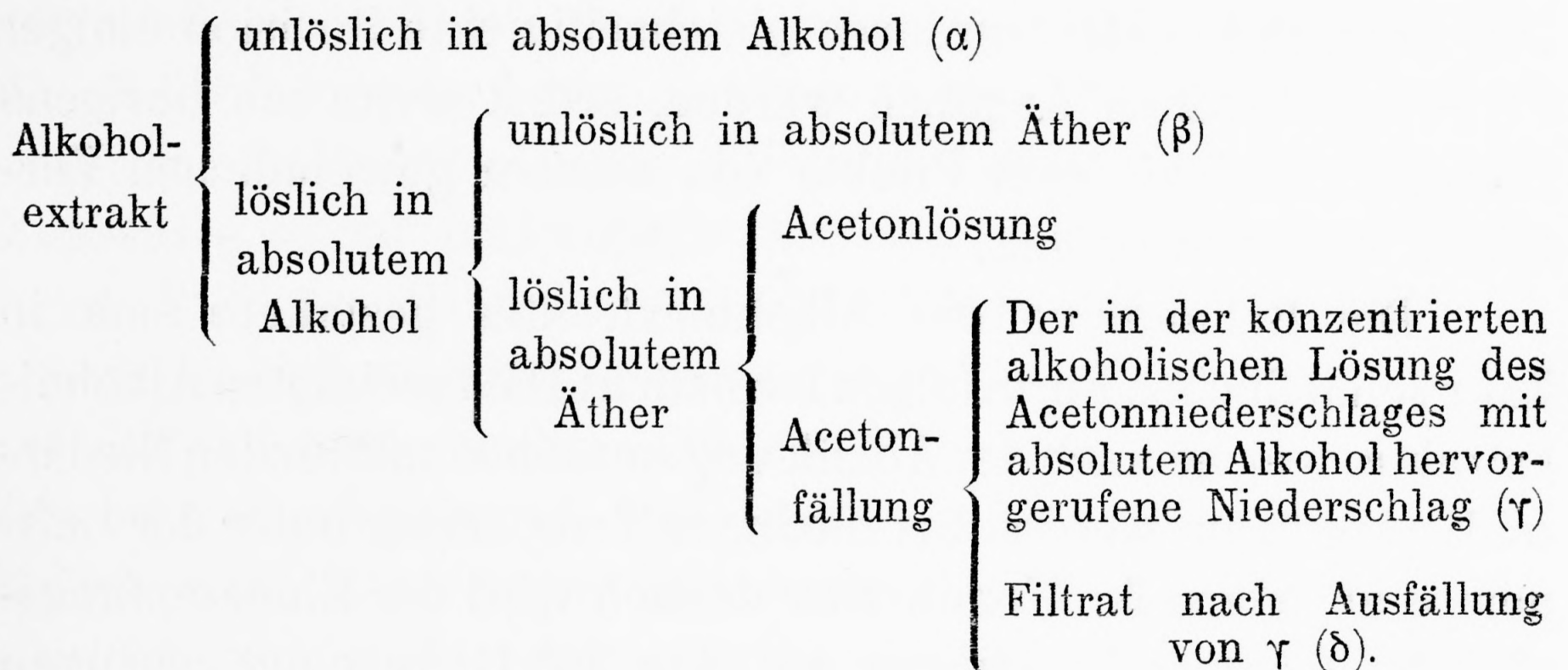
¹⁾ Hoppe-Seylers Angaben, daß er auf diese Weise «das reine, krystallisierte Lecithin» hergestellt hat, stehen gänzlich isoliert.

(Acetonzusatz in bedeutendem Überschuß) 3,48% P und 3,01% N ergab. Versuche mit Umfällung von Essigester, in welchem die Hauptmenge schwerlöslich war, ergaben ebenfalls keine mehr aufmunternden Resultate. Sämtliche Analysen gaben jedoch dieselbe Aufklärung wie der erste Versuch, daß sich im Alkohol-extrakt des Herzens Phosphatide finden, die mit Rücksicht auf N-Gehalt von dem Lecithin abweichen. Nach diesen Resultaten wurden die Versuche aufgegeben, ausschließlich mittels der Löslichkeitsverhältnisse der betreffenden Phosphatide eine Reindarstellungsmethode auszubilden, und entschloß ich mich daher zu einem Versuch, durch Fällung der Phosphatide mit Cadmiumchlorid und Trennung der gefällten Cadmiumchloridverbindungen nach Thudichums Verfahren die Frage zu lösen. Der Versuch konnte hierdurch gleichzeitig eine Revision einiger Thudichumschen Angaben werden, selbst wenn ich übrigens bezüglich verschiedener Punkte von seinem gewöhnlichen Verfahren abgewichen bin.

Die Behandlung des Alkoholextraktes gestaltete sich in ihrer schließlichen Form folgendermaßen: Die vereinigten Alkohol-extrakte, welche nach der Abkühlung nur einen minimalen Niederschlag absetzen, werden bei niedriger Temperatur unter der Luftpumpe abgedampft. Unmittelbar danach wird der Eindampfungsrückstand unter Erwärmung auf 35—40° C. in einer geringen Menge absoluten Alkohols gelöst, worauf er unter CO₂ an einen dunklen und kühlen Ort zum Klären gestellt wird. Die klare, konzentrierte Lösung wird dekantiert, während der unlösliche Teil (α) sorgfältig mit absolutem Alkohol ausgewaschen wird. Die Lösung und der Waschalkohol werden bei niedriger Temperatur im Vakuum abgedampft. Der Eindampfungsrückstand wird mit absolutem Äther übergossen. Unter Umschütteln löst er sich, eine weißliche Substanz hinterlassend, von der die ganze Flüssigkeit angefüllt ist, und die sich erst sehr langsam beim Stehen in einem hohen, schmalen Zylinderglas setzt. Die klare, gelbe Lösung wird von dem weißlichen, halbgelatinösen Bodensatz (β) dekantiert, der lange mit absolutem Äther ausgewaschen wird. Die Ätherlösungen werden unter der Luftpumpe eingeengt, worauf bei niedriger Temperatur (ca. 0—5° C.) mit wasser-

freiem Aceton gefällt wird. Der Acetonniederschlag wird mit Aceton gewaschen und nachher von demselben befreit, mit Hilfe der Luftpumpe bei gleichzeitigem, vorsichtigem Erwärmen auf dem Wasserbad (40° C.). Er wird wiederum in etwas absolutem Alkohol gelöst, wobei nur ein minimaler Teil klebriger Natur zurückbleibt. Wird jetzt zu der konzentrierten alkoholischen Lösung absoluter Alkohol zugesetzt, so entsteht ein weißgelber, leicht klebriger Niederschlag (γ), der sich beim Schütteln zusammenballt. Solange ein Niederschlag entsteht, wird absoluter Alkohol zugesetzt. Das alkoholische Filtrat (δ) enthält die Hauptmenge der Phosphatide des Alkoholextraktes.

Das Prinzip für die Trennung ist aus folgender schematischer Übersicht verständlich.



Die gegenseitigen Mengenverhältnisse, sowie der Unterschied in dem P- und N-Gehalt der Fraktionen bei einem einzelnen Versuch gehen aus folgender Übersicht hervor:

	Gewicht g	P-Gehalt %	N-Gehalt %
α	ca. 10	—	—
β	» 35	0,20	6,82
Acetonlösung . . .	» 16	0,75	1,97
γ	» 4	3,47	1,70
δ	» 80	3,28	3,62

Man erzielt demnach durch diese Behandlung die Hauptmenge der Phosphatide in die Fraktionen γ und δ zu gewinnen; aber sonst sind die Resultate nicht wesentlich anders als diejenigen der oben angeführten Untersuchungen. Nur geht es

aus denselben vielleicht deutlicher hervor, welches Übergewicht die Phosphatide mit hohem N-Gehalt in dem Alkoholextrakt besitzen müssen.

1. Fraktion α bildet nach dem Auswaschen mit absolutem Alkohol und Trocknen harte, grauweiße Massen, welche hauptsächlich aus unverbrennbaren Stoffen bestehen. Der Glührückstand, der starken salzigen Geschmack hat, enthält reichliche Chloride. Der wässerige Auszug gibt starke P_2O_5 -Reaktion und Schwefelreaktion. Die organischen Bestandteile lassen sich mit Äther extrahieren; jedoch ist die Menge so gering, daß man auf eine weitere Untersuchung verzichten muß. Die Hauptmenge der Fraktion ist anorganisch (Salze). Von dem Protagon und dem Jecorin, die sich infolge des Darstellungsverfahrens eventuell hier vorfinden sollten, sind keine nachweisbaren Mengen vorhanden. Der Niederschlag gibt nach langem Kochen mit $2\frac{1}{2}\%$ H_2SO_4 keine reduzierende Substanz. Gibt es demnach im Herzen protagonartige Stoffe, so müssen diese in Lösung gehalten und eventuell anderswo gesucht werden.

2. Fraktion β . Der weißliche, in Äther unlösliche Bodensatz wird lange und sorgfältig mit Äther gewaschen. Da die Fraktion teilweise zu einer braunen, sirupartigen Masse zusammenfließt, wird die Auswaschung schwer vollständig. Beim Abdampfen des Äthers geht die Substanz vollständig in eine zusammenfließende, transparente Masse von eigentümlichem Geruch und stark hervortretendem sauren Geschmack über. Sie ist in starkem Alkohol nicht klar löslich, scheint in Chloroform und Aceton unlöslich zu sein. Wird der Alkohol mit Wasser verdünnt, so löst sich die Substanz zu einer klaren, braungelben Lösung. Aus dieser läßt sie sich mit Äther und Aceton fällen und bildet einen klebrigen, braungelben Niederschlag. Dieser ist in Wasser leicht löslich. Die klare, gelbe, wässerige Lösung reagiert deutlich sauer auf Lackmuspapier. Wird die Lösung mit Äther geschüttelt, so färbt sich der Äther leicht gelblich. Die wässerige Lösung läßt sich nicht von konzentrierten Salzlösungen (z. B. schwefelsaurem Ammoniak) fällen, gibt bei Zusatz verdünnter Alkalien (zu alkalischer Reaktion) keinen Niederschlag und hält sich bei Zusatz verdünnter Säuren vollständig

klar. Da die wässrige Lösung mit Barytwasser keinen Niederschlag und die ammoniakalische Lösung nach dem Stehen mit einer Mischung Magnesiumsulfat und Magnesiumchlorid keinen Niederschlag gibt, so scheinen freie Phosphate ausgeschlossen werden zu können. Die wässrige Lösung gibt keinen Niederschlag mit einer wässrigen CdCl_2 -Lösung, während eine Lösung in verdünntem Alkohol von alkoholischer CdCl_2 -Lösung gefällt wird. Dahingegen wird die wässrige Lösung von einer wässrigen AgNO_3 -Lösung gefällt. Dieser Niederschlag besteht nicht aus AgCl , und das Filtrat ist vollständig ungefärbt. Die Substanz gibt nach Veraschung Phosphorreaktion. Nach dem Schmelzen mit Natrium gibt die wässrige Lösung mit Nitroprussidnatrium Schwefelreaktion. Beim Kochen mit Eisenchlorid bei leicht saurer Reaktion (in Übereinstimmung mit Siegfrieds¹⁾ Angabe zur Herstellung von Carniferrin) erhält man einen braunschwarzen Niederschlag, der sich nach angegebenem Auswaschen und Trocknen als phosphorhaltig erweist. Wiederholte Versuche, nach Invertierung eine reduzierende Substanz nachzuweisen, ergaben ein negatives Resultat. Die Substanz gab nicht Millons Reaktion. Wird die Substanz mit Kalk und Wasser in einem Mörser angerieben, so erhält man deutlich NH_3 -Geruch und Blaufärbung von Lackmuspapier.

Nach dem Glühen der Substanz auf dem Platinblech hinterläßt sie einen geringen, schneeweißen Rest, welcher nach der Lösung in HNO_3 Phosphorsäure-, Schwefelsäure- und Chlorreaktion gibt.

Die Substanz wird sorgfältig mit Äther ausgewaschen, um von Resten ätherlöslicher Bestandteile befreit zu werden. Das derart hergestellte Produkt enthält 0,2% P und 6,82% N. Die Substanz läßt sich in wässriger Lösung mit Natronlauge titrieren (1,0413 g verbrauchte 9,07 ccm $n/10$ Natron) Diese Substanz ist trotz des geringen P-Gehaltes kaum als ein Phosphatid aufzufassen. Sie gibt bei Verseifung nur einen außerordentlich geringen Fettsäurenertrag (2—3%) und hat wie gesagt mit der «Phosphorfleischsäure» (Siegfrieds Muskelnucleon) gewisse Eigenschaften gemein. Sie ist hier nur deshalb von Interesse, weil sie in größerer Menge in den acetonunlöslichen Teilen des

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXI, S. 361.

Alkoholextrakte angetroffen wird, und weil ihre alkoholische Lösung einen alkoholunlöslichen Niederschlag mit alkoholischen CdCl_2 -Lösungen gibt. Betrachtet man den Niederschlag der alkoholischen Organextrakte bei Zusatz alkoholischer CdCl_2 -Lösung ohne weiteres als Doppelverbindungen von CdCl_2 und Phosphatiden, so setzt man sich der Gefahr ernster Versehen aus. Die CdCl_2 -Fällung besteht zum Teil aus gelblichen festen Klumpen, zum Teil aus einem flockigen, weißen Niederschlag, der sich hauptsächlich gegen Schluß der Fällung einstellt. Der gesamte, getrocknete und pulverisierte CdCl_2 -Niederschlag ergab folgende Zusammensetzung: 28,01% C, 4,76% H, 5,75% N, 0,75% P, 20,44% Cd, 13,83% Cl; gab aber keine S-Reaktion. Die Chlorbestimmung fiel beständig im Verhältnis zur Cd-Menge zu hoch aus, was darauf deuten ließe, daß der Substanz im voraus eine geringe Menge Chloride beigemischt wäre; hierfür spricht auch der Umstand, daß der Glührückstand der Substanz schwache Chlorreaktion gab.

In der Hoffnung, mittels fraktionierter Fällung Aufklärungen von größerem Wert erhalten zu können, wurde die Fällung in 3 Fraktionen vorgenommen. Die erste Fraktion bestand aus einem zähen, braungelben Sirup, der nach dem Trocknen harzig wurde und keine weißen Flöckchen aufwies. Die 3. Fraktion bestand aus einem fast schneeweißen, losen Niederschlag, der sich leicht abfiltrieren ließ. Sie wurde mit absolutem Alkohol gewaschen und nachher getrocknet. Die Analysen ergaben:

	I. Fraktion	III. Fraktion
P =	0,42%	Spur
N =	5,14%	3,19%
Cd =	17,41%	36,47%

Meine Untersuchungen dieser eigentümlichen Substanz, welche sich also mittels fraktionierter Fällung mit CdCl_2 in mehrere, unter einander verschiedene Substanzen teilen ließ, haben mithin nicht zu einer ausreichenden Bestimmung der Natur derselben geführt; sie haben jedoch den wichtigen Nachweis erbracht, daß es unter den alkohollöslichen Stoffen des Myocardium außer den Phosphatiden stickstoffreichere Stoffe gibt, welche mit CdCl_2 schwerlösliche

Verbindungen bilden und sich durch einen sehr hohen CdCl_2 -Gehalt auszeichnen.

3. Der in Aceton lösliche Teil des Alkoholextraktes löst sich nach dem Abdampfen im Vakuum klar in Alkohol auf. Diese Lösung gibt sowohl mit CdCl_2 wie auch mit Platinchlorid wohl ausgeprägte Niederschläge. Es ist hieraus und aus den Analysen (0,75% P, 1,97% N) ersichtlich, daß Aceton auch ein wenig der P- und N-haltigen Bestandteile des Alkoholextraktes löst.

Die aus diesem Produkt gewonnene CdCl_2 -Verbindung ergab bei übereinstimmenden Doppelbestimmungen

1,63% P, 2,77% N, 30,71% Cd.

Es scheint demnach, daß die Acetonlösung sowohl etwas Phosphatid sowie auch Substanzen derselben Art wie β enthält. (Der Cadmiumgehalt scheint allenfalls zu hoch zu sein, um ausschließlich Phosphatiden zugeschrieben werden zu können.)

4. Fraktion γ . Dieses Produkt, das aus dem Alkohol-extrakt gewonnen wurde, obwohl es alkoholunlöslich ist, weist verschiedene Ähnlichkeiten mit dem sogenannten Jecorin auf. Die Alkohollösung, aus welcher sie gewonnen ist, zeigte die von Bing¹⁾ hervorgehobene Eigentümlichkeit, daß sie bei Zusatz von etwas Äther trübe (opalisierend), jedoch bei weiterem Zusatz wiederum vollständig klar wird.

Das Produkt, das nur einen geringen Bruchteil des ganzen Extraktes bildet, ist nach dem Trocknen braungelb, spröde, sehr hygroskopisch.

Es löst sich in Wasser zu einer fast klaren, gelblichen Flüssigkeit, welche mit konzentrierter NaCl -Lösung Niederschlag gibt. Die Lösung wird bei Zusatz von Silbernitrat unklar, jedoch bei nachfolgendem NH_3 -Zusatz wiederum klar. Kocht man nun, so färbt sich die Flüssigkeit portweinrot. Wird die Flüssigkeit mit ein wenig Natronlauge gekocht, so erhält man eine klare, gelbbraune Lösung, welche nach der Abkühlung gelatiniert. Bei Zusatz von HCl entsteht ein bedeutender gelblicher Niederschlag (entgegengesetzt Baldis Jecorin). Nach dem Kochen

¹⁾ Bing, Skand. Archiv f. Physiologie, Bd. IX.

mit 3% H_2SO_4 und Abstumpfung der Säure gibt das Filtrat deutliche Reduktion der Fehlingschen Lösung.

Es enthält 3,47% P und 1,70% N, außerdem gibt es deutliche Schwefelreaktion.

Die Substanz hat mithin viele Eigenschaften mit dem Jecorin gemein, das sich bei diesen Untersuchungen nicht mit Sicherheit anderswo nachweisen ließ.

5. Fraktion δ . Die Fraktion, welche bei weitem die überwiegende Menge der phosphorhaltigen Substanzen des Alkoholextraktes und namentlich fast den ganzen Phosphatidgehalt enthält, erweist sich nach Fällung der erwähnten jecorinartigen Substanz vollständig frei von reduzierenden Substanzen, indem es selbst nach langem Kochen mit verdünntem H_2SO_4 nicht gelang, derartige nachzuweisen. Phosphorbestimmungen und Stickstoffbestimmungen ergaben bei 2 verschiedenen Darstellungen folgende Resultate:

	Phosphorgehalt	N-Gehalt
I.	3,28%	3,63%
II.	3,01%	3,53%

Wenn ich mich nach vorstehendem Versuch entschlossen habe, die alkoholische Lösung von δ direkt einer Fällung mit CdCl_2 zu unterwerfen, so ist dies nicht ohne Erwägung geschehen. Besonders habe ich erwogen, inwiefern man nach Thudichums¹⁾ Angaben erst das Produkt einer Bleifällung unterwerfen sollte, um eventuell vorhandene Verbindungen zu beseitigen, welche sich gegenüber Bleisalzen wie Kephalin und Myelin verhielten. Obwohl ich mich davon überzeugt habe, daß die alkoholische Lösung von δ einen bedeutenden Niederschlag bei Zusatz einer alkoholischen Bleizuckerlösung, welcher einige Tropfen Ammoniak zugesetzt ist, gibt und daß dieser Niederschlag in Äther unlöslich ist, so habe ich doch von dieser Behandlung abgesehen. Zum Teil haben Analysen der CdCl_2 -Verbindungen mir gezeigt, daß Phosphatide der Struktur des Kephalins und des Myelins kaum zugegen sein konnten, teilweise schien mir das Kochen der Phosphatidmischung mit einer ammoniakalischen

¹⁾ l. c. S. 117.

Bleizuckerlösung und der nachfolgenden Entfernung der Bleisalze nach meiner Erfahrung bei anderen Metallphosphatidverbindungen so eingreifend zu sein, daß sich eine, wenigstens teilweise Zersetzung nicht wohl vermeiden lasse, obwohl Thudichum¹⁾ das Gegenteil behauptet. Das Produkt δ wurde deshalb in Alkohol gelöst und aus diesem mit einer, durch leichte Erwärmung gesättigten, alkoholischen CdCl_2 -Lösung gefällt. Hierbei entsteht ein bedeutender blaßgelber Niederschlag. Es wird, solange Niederschlag entsteht, CdCl_2 -Lösung zugesetzt und überdies noch ein großer Überschuß, worauf geschüttelt und 24 Stunden zu vollständiger Fällung hingestellt wird. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit absolutem Alkohol gewaschen, bis dieser farblos durch den Filter läuft. Der Niederschlag wird danach eine Zeit mit absolutem Alkohol hingestellt, worauf er wieder filtriert, mit Alkohol gewaschen und schließlich im Vakuumexsikkator über Chlorcalcium getrocknet wird.

Das Filtrat wird zu besonderer Untersuchung hingestellt (siehe unten).

Der Chlorcadmiumniederschlag läßt sich nach Exsikkatortrocknung leicht zu einem feinen, blaßgelben, stäubenden Pulver zerreiben. Ohne weitere Reinigung als die gründliche Alkoholbehandlung gaben die Analysen folgende Resultate von 2 Produkten verschiedener Darstellungen:

	I.		II.		Durchschnitt %	Atome (P = 1)	Berechnet für $\text{C}_{40}\text{H}_{75}\text{N}_2\text{PO}_{12}$, 2 CdCl_2 %
	%	%	%	%			
C	41,15	41,17	40,53	40,54	40,85	40,30	40,95
H	6,37	6,41	6,30	6,39	6,37	75,20	6,42
N	2,46	2,43	2,40	2,41	2,43	2,04	2,40
P	2,64	2,65	2,61	2,59	2,62	1	2,65
Cd	18,75	18,74	19,39	19,45	19,08	2,02	19,12
Cl	11,86	—	12,39	—	12,13	4,04	12,09
[O]	—	—	—	—	16,52	12,22	16,38

¹⁾ l. c. S. 286.

Analytische Beilage.

I. Phosphorbestimmung:

0,5076 g verbrauchten 24,25 ccm $n/2$ -Natron = 2,64% P
 0,3610 g » 17,27 » » = 2,65% »

Kjeldahlbestimmung:

0,7549 g verbrauchten 13,22 ccm $n/10$ -H₂SO₄ = 2,46% N
 0,7124 » » 12,32 » » = 2,43% »

Cadmiumbestimmung:

0,7277 g gaben 0,2534 g CdSO₄ = 18,75% Cd
 0,7319 » » 0,2547 » » = 18,74% »

Chlorbestimmung:

0,6312 g gaben 0,3028 g AgCl = 11,86% Cl.

Elementaranalyse:

0,2575 g gaben 0,1472 g H₂O = 6,37% H und 0,3884 g CO₂ = 41,15% C
 0,4145 » » 0,2385 » » = 6,41% » » 0,6256 » » = 41,17% »

II. Phosphorbestimmung:

0,3820 g verbrauchten 17,98 ccm $n/2$ -Natron = 2,61% P
 0,4980 » » 23,27 » » = 2,59% »

Kjeldahlbestimmung:

0,9240 g verbrauchten 15,79 ccm $n/10$ -H₂SO₄ = 2,40% N
 0,7602 » » 13,04 » » = 2,41% »

Dumasbestimmung:

0,6744 g gaben 13,59 ccm N = 2,44% N
 (bei 9,0° C. und 765 mm Barometerdruck gemessen).
 0,6517 g gaben 13,19 ccm N = 2,42% N
 (bei 12,8° C. und 769 mm Barometerdruck gemessen).

Cadmiumbestimmung:

0,9596 g gaben 0,3456 g CdSO₄ = 19,39% Cd
 0,6928 » » 0,2503 » » = 19,45% »

Chlorbestimmung:

0,6453 g gaben 0,3234 g AgCl = 12,39% Cl.

Elementaranalyse:

0,3693 g gaben 0,2089 g H₂O = 6,30% H und 0,5487 g CO₂ = 40,53% C
 0,4236 » » 0,2430 » » = 6,39% » » 0,6275 » » = 40,54% »

In beiden Fällen erwiesen sich die CdCl₂-Verbindungen als schwefelfrei. Es geht aus obenstehendem hervor, daß die analytischen Resultate bei den 2 Darstellungen nicht ganz gleichartig ausfielen, indem der CdCl₂-Gehalt der letzten Darstellung (II) etwas höher war.

Indessen ergab die Berechnung in beiden Fällen annähernd dieselbe Zusammensetzung, so daß der Mittelwert beider Darstellungen einen passenden Ausdruck für sämtliche Analysen gibt, welche zur Formel: $C_{40}H_{75}N_2PO_{12}, 2CdCl_2$ führten. Man war demnach überraschend leicht zu einer Verbindung gelangt, welche ein einfaches Verhältnis zwischen Stickstoff und Phosphor aufwies und sich mit $CdCl_2$ im Verhältnis $P : N : CdCl_2 = 1 : 2 : 2$ zu verbinden schien.

In dieser Beziehung war die Übereinstimmung mit Thudichums Phosphatiden mit 2 Stickstoffatomen vollständig. Dahingegen war die Zusammensetzung nicht identisch, indem die Formel des Amidomyelins zu $C_{44}H_{92}N_2PO_{10}$, die des Sphingomyelins zu $C_{52}H_{104}N_2PO_9$ angegeben wird.

Das Produkt paßt demnach nicht in Zusammensetzung mit Thudichums im Gehirn nachgewiesenen Diamidomonophosphatiden, welche sich auch durch Unlöslichkeit in Äther auszeichnen. Da es sich jedoch als zweifellos betrachten läßt, daß das Produkt nicht Phosphatide der Gruppe der Monoamidomonophosphatide enthält ($N : P = 1 : 1$), habe ich nicht unterlassen wollen, zu untersuchen, ob Thudichums Trennungsmethode auf Grundlage der abweichenden Löslichkeitsverhältnisse der $CdCl_2$ -Verbindungen Gemeingültigkeit hätte.

Unter der Besprechung der Thudichumschen Arbeit habe ich schon berührt, daß er durch Fällung mit Blei einige der Monoamidomonophosphatide (Kephalin, Myelin) der Phosphatidmischung entfernt (während das Sphingomyelin wegen seiner Unlöslichkeit in Äther früher entfernt ist).

Die übrigen Phosphatide werden als Chlorcadmiumverbindungen gefällt. Nach dem Trocknen entfernt Thudichum ¹⁾ jede Spur von ätherlöslichen Materien durch Behandlung mit kochendem Äther in einem Extraktionsapparat, «bis 6 stündige Extraktion nur noch wenige Zentigramm in die Kochflasche befördert».

Die etwas gelatinösen $CdCl_2$ -Verbindungen werden getrocknet, pulverisiert und darauf einer Behandlung mit kaltem wasserfreien Benzol unterworfen, wodurch Kephalinchlorcadmium und Kephaloidinchlorcadmium gelöst werden. Die ungelöste Masse

¹⁾ l. c. S. 117—118.

wird nun mit kochendem Benzol behandelt. Nach dem Kochen bleibt nach Abkühlung Lecithinchlorcadmium in Lösung und wird von dem unlöslichen Teil, der nach Thudichums Angabe aus Paramyelinchlorcadmium und Amidomyelindichlorcadmium besteht, durch Dekantieren getrennt. Diese letzteren werden durch kochendes Benzol getrennt, in welchem das erste löslich, das letzte unlöslich ist.

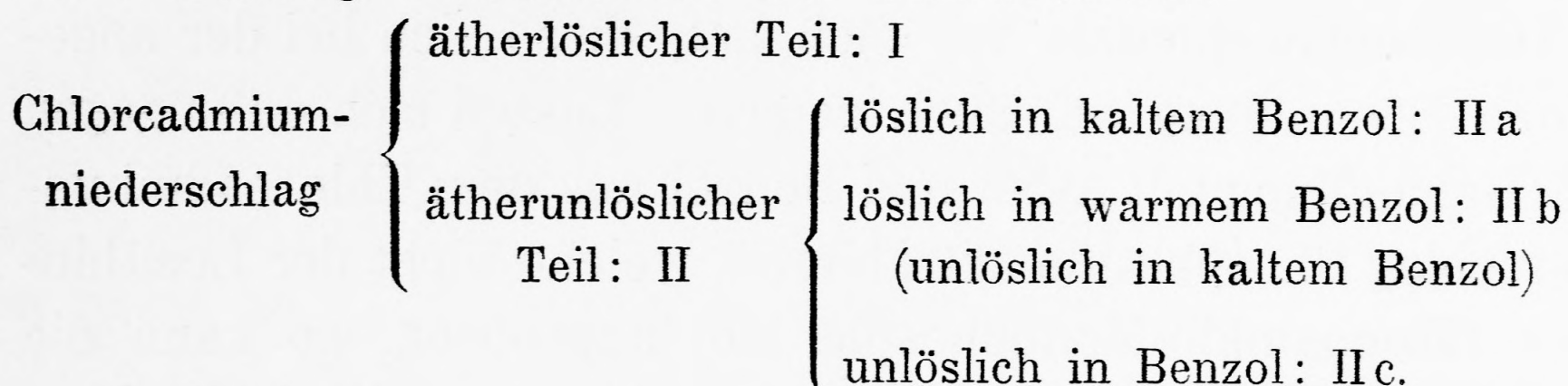
Hätte dieses Verfahren Gemeingültigkeit, so müßten, wenn man Diamidophosphatide vor sich hat, diese sich bei der angegebenen Behandlung unlöslich zeigen. Lassen sich dahingegen durch Behandlung mit Äther und Benzol aus dem Chlorcadmiumniederschlag Phosphatide extrahieren, welche nicht der Lecithin-Gruppe (Monoamido-Monophosphatide) angehören, so kann die Methode niemals Gemeingültigkeit zur Trennung der CdCl_2 -Verbindungen der Mono- und Diamidophosphatide erlangen. Hinsichtlich dieses werden die unten angeführten Versuche aufklären.

54 g CdCl_2 -Niederschlag werden, sorgfältig getrocknet und pulverisiert, einer Ätherextraktion unterworfen. Zu diesem Zweck wird das Material in Filtrierpapierpatronen verteilt (jede mit 16—20 g), welche in Soxhlets Extraktionsapparaten angebracht werden.

Die Extraktion wird 14 Tage ununterbrochen fortgesetzt, indem jedoch die Extrakte Tag für Tag entfernt werden. Während anfangs recht große Mengen in Lösung gehen, nehmen die Extraktmengen gleichmäßig ab, bis in den letzten Tagen nur wenige Zentigramm Extrakt aus jedem Extraktionsapparat gewonnen werden.

Die ätherische Lösung der Extrakte, die leicht trübe war, wurde in ein hohes, schmales Zylinderglas gestellt, wobei sie unter Absetzung eines minimalen Niederschlags sich klärte. Nach Dekantieren und Filtrieren wird die Ätherlösung zu starker Konzentration eingedampft, worauf mit abgekühltem, absolutem Alkohol gefällt wird. Der Niederschlag (I) wird mit absolutem Alkohol gewaschen und getrocknet (Gewicht ca. 15 g). Der unlösliche Teil wird mit den Filterpatronen im Vakuum (Temp. 30—40° C.) über Paraffin getrocknet, worauf die Patronen sorgfältig von dem ungelösten Rückstand gereinigt werden, der pul-

verisirt und im Exsikkator getrocknet wird. Er wiegt im ganzen ca. 34 g. Während 54 g in Arbeit genommen wurden, wiegen die 2 Fraktionen zusammen nur 49 g. Es ist demnach ein Gewichtsverlust entstanden, der sich nicht ganz durch die mit den Prozeduren verbundenen Verluste erklären läßt. Bei der folgenden Benzolbehandlung wird der Rückstand in verschiedene Fraktionen geteilt. Wie aus untenstehender Übersicht hervorgeht, ist das Prinzip für diese Teilung dasselbe wie bei Thudichum.

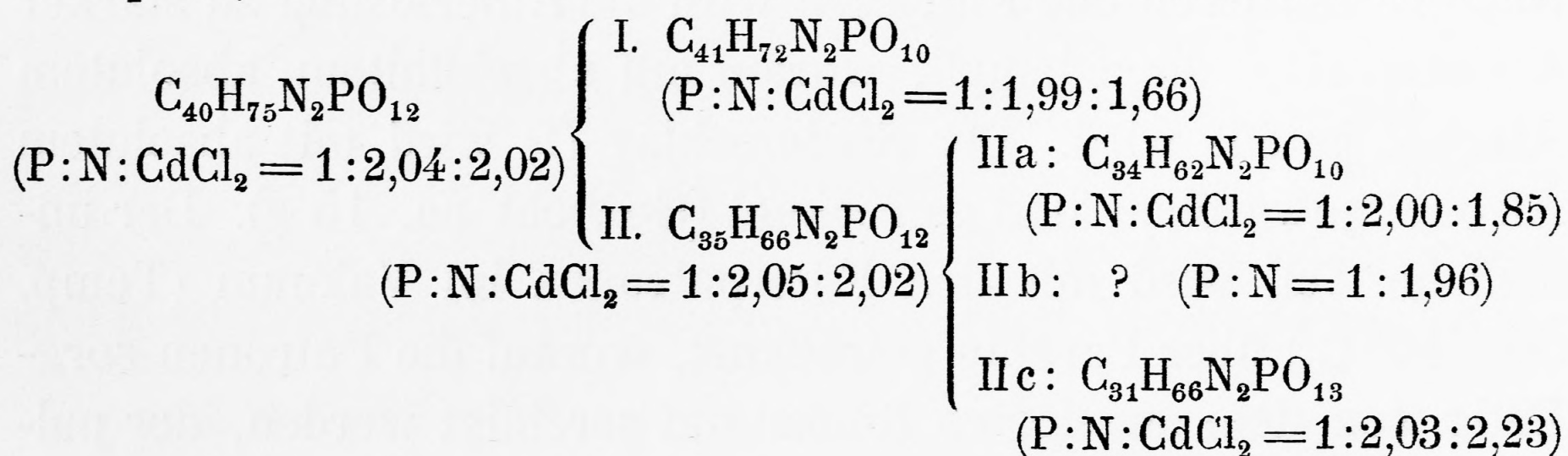


Die Teilung des ätherunlöslichen Teiles (II) war ebenfalls mit Verlust verbunden. Das Verhältnis zwischen den hierbei gewonnenen Fraktionen war folgendes

$$\begin{array}{l}
 10 \text{ g gaben:} \\
 \text{Fraktion II.}
 \end{array}
 \left\{ \begin{array}{l}
 \text{ca. } 4,25 \text{ g II a} \\
 \text{» } 1,25 \text{ » II b} \\
 \text{» } 3,50 \text{ » II c}
 \end{array} \right.$$

(Verlust ca. 1 g).

Zur Beleuchtung der Bedeutung der Extraktionen wurden sämtliche Fraktionen einer vollständigen quantitativen Analyse unterworfen. (Fraktion II b reichte nur zur N- und P-Bestimmung aus). Die aus diesen Analysen abgeleiteten empirischen Formeln sind in untenstehender Übersicht zusammengestellt. Der Chlorcadmiumgehalt stand in den Fraktionen nicht in so einfachem Verhältnis zu P und N wie in der ursprünglichen CdCl_2 -Fällung, weshalb ich CdCl_2 aus den unten angeführten Formeln ausgelassen, jedoch betreffs aller Fraktionen das Verhältnis angegeben habe, in welchem nach den Analysen Phosphor, Stickstoff und Cadmiumchlorid zu einander standen.



Die Analysen der verschiedenen Fraktionen gaben also das überraschende Resultat, daß die ursprüngliche CdCl_2 -Fällung, deren atomistische Relationen so einfach waren, bei Extraktionsbehandlung nach Thudichums Prinzipien in eine Reihe verschiedener Produkte geteilt wurden, welche alle annähernd das Verhältnis $\text{P} : \text{N} = 1 : 2$ enthielten, während sich übrigens recht bedeutende Abweichung zu erkennen gab. Dies ist deutlich aus obenstehenden Formeln ersichtlich.

Betrachtet man den P- und N-Gehalt als konstant, so scheinen die Veränderungen im Molekül in einer successiven Verminderung des C- und H-Gehalts zu bestehen, während der Sauerstoffgehalt um den ursprünglichen schwankt. Wie sich die Erklärung auch immer gestalten möge, so scheint es doch unzweifelhaft, daß es sich eher um Beeinflussung der ursprünglichen Verbindung durch die andauernden Äther- und Benzol-extraktionen, als um eine Trennung der CdCl_2 -Verbindungen der verschiedenen Phosphatide handelt. Und es läßt sich als bewiesen betrachten, daß es in sämtlichen Fraktionen Verbindungen mit dem Verhältnis $\text{P} : \text{N} = 1 : 2$ gibt (das Ätherextrakt mitberechnet), so daß die Methode keine allgemeingültige Anwendung zur Trennung von Monoamidophosphatiden und Diamidophosphatiden finden kann. Es ist eher anzunehmen, daß die langwierige Extraktionsbehandlung — zum Teil bei hoher Temperatur — einen teilweise zersetzenden Einfluß auf die CdCl_2 -Verbindungen hat. Es muß angenommen werden, daß Thudichum im Gehirn ganz besonders günstige Verhältnisse angetroffen hat, wenn er keine Spur von Verbindungen mit dem Verhältnis $\text{P} : \text{N} = 1 : 2$ in einem seiner Äther- oder Benzol-extrakte der CdCl_2 -Verbindungen der Phosphatiden findet. Ich muß daher feststellen, daß seine Methode als Glied einer allgemeinen qualitativen Phosphatidanalyse keine Anwendung finden kann.

Die angeführten Resultate sprechen alle dafür, daß wir es in der ursprünglichen CdCl_2 -Fällung mit Diamidomonophosphatiden zu tun haben, und die Zusammensetzung der verschiedenen Fraktionen, welche durch die Extraktionsbehandlung gewonnen wurden, sprechen nicht dagegen, daß es sich in

Wirklichkeit um ein Phosphatid, oder allenfalls um Phosphatide derselben Struktur handelt.

Über dieses Phosphatid oder diese Gruppe von Phosphatiden habe ich eingehendere Kenntnisse zu erlangen gesucht, indem ich einerseits versuchte, das aus der CdCl_2 -Verbindung freigemachte Phosphatid herzustellen, und mir andererseits durch Verseifung Aufklärung über die Konstitution der Verbindung zu verschaffen suchte. Erinnerung man sich an das Verhältnis der CdCl_2 -Verbindung des Phosphatides des Ätherextraktes (Lecithin c), wo $\text{C}_{43}\text{H}_{80}\text{NPO}_9$ einer CdCl_2 -Verbindung mit $\text{C}_{37}\text{H}_{69}\text{NPO}_8$ entsprach, so kann es vielleicht zweifelhaft erscheinen, ob $\text{C}_{40}\text{H}_{75}\text{N}_2\text{PO}_{12}$, 2 CdCl_2 einem Phosphatid der Zusammensetzung $\text{C}_{40}\text{H}_{75}\text{N}_2\text{PO}_{12}$ entspricht, kurz gesagt, ob die CdCl_2 -Verbindungen einfache Additionsprodukte sind.

Diese Versuche sind zum Teil mißlungen, geben jedoch Aufklärungen, welche für das fernere Studium Interesse bekommen können.

Zur Isolierung der Phosphatide aus ihren CdCl_2 -Verbindungen sind Verfahren von Strecker, Thudichum, Bergell und Ulpiani angegeben.

Streckers Verfahren besteht darin, durch Zuleitung von SH_2 zu einer Suspension der fein pulverisierten CdCl_2 -Verbindung in Alkohol, Cd als Sulfid zu entfernen. Bei Erwärmung geht das salzsaure Lecithin in Lösung, wonach das Cadmiumsulfid abfiltriert wird. Die Lösung wird mit Silberoxyd geschüttelt, wodurch HCl entfernt wird. Hierbei geht etwas Silberoxyd in Lösung, welches durch Schwefelwasserstoff wieder entfernt werden muß. Nach Abdampfen des Alkohols sollte der Abdampfungsrückstand reines «Lecithin» sein.

Thudichums¹⁾ Verfahren weicht von Streckers dadurch ab, daß das, bei der Zuleitung von SH_2 freigemachte, HCl durch Digestion des Filtrates von der SH_2 -Fällung mit Mercuramin (Millons Base) entfernt wird. Doch wird auch Dialyse der wässrigen Suspension der CdCl_2 -Verbindungen der Phosphatide vorgeschlagen, ohne daß hervorgeht, ob die Resultate befriedigend waren.

¹⁾ l. c. S. 118—120 und 162—163.

Bei Bergells¹⁾ Verfahren wird der CdCl_2 -Niederschlag mit Alkohol unter Zusatz von Ammoniumcarbonat gekocht, bis die Flüssigkeit alkalisch reagiert und das Filtrat kein Cadmium enthält. Das alkoholische Filtrat wird auf -10°C . abgekühlt. Der Niederschlag wird in Chloroform gelöst und mit Aceton gefällt.

Ulpiani²⁾ scheint die vorgeschlagenen Methoden nicht befriedigend gefunden zu haben. Die SH_2 -Einwirkung wird schwer vollständig und das Produkt bekommt einen unangenehmen Geruch, der später nicht verschwindet. Außerdem scheint der Schwefelwasserstoff auf das Lecithin unter gewissen Bedingungen einen saponifizierenden Einfluß auszuüben. In einem Versuch, den Ulpiani mit 9 g Lecithinchlorcadmium anstellte, wurde das nach Streckers Methode isolierte Lecithin wieder mit CdCl_2 gefällt, wodurch aber nur 2 g der CdCl_2 -Verbindung gewonnen wurden. Die Methode war also in quantitativer Beziehung außerordentlich unbefriedigend. Analysen wurden nicht vorgenommen. Bessere Resultate erzielte Ulpiani bei 3stündiger Behandlung der alkoholischen Suspension mit Bleihydrat in der Kälte. Das Produkt enthielt aber stets Chlor. Wurde dahingegen das Bleihydrat durch Silberoxyd ersetzt, so erhielt er eine klare alkoholische Lösung, welche sowohl von Cd wie Cl vollständig befreit war. Die letztgenannten Methoden, welche außerordentlich wenig eingreifend erscheinen, riefen aber eine bedeutende, partielle Dekomposition der Lecithinlösung hervor, so daß der quantitative Ertrag sehr unbefriedigend war.

Für sämtliche Methoden ist der außerordentlich geringe quantitative Ertrag charakteristisch. Strecker scheint nicht, wie nach der empirischen Formel der CdCl_2 -Verbindung zu erwarten war, freies Lecithin von entsprechender Zusammensetzung wiedergewonnen zu haben. Bergell und Ulpiani geben überhaupt keine Analysen ihrer regenerierten Phosphatide, und Thudichum endlich drückt sich betreffs der befreiten Phosphatide vorsichtig aus und äußert sich nicht klar, inwiefern er deren Zusammensetzung mit den aus den CdCl_2 -Verbindungen abgeleiteten Formeln identisch gefunden hat.

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

Betrachtet man mithin diese Frage genauer, so scheint sie nicht ganz so einfach zu sein, wie Thudichums Äußerungen andeuten. Meine zu diesem Zweck angestellten Untersuchungen haben diese Vermutung bekräftigt.

Die ersten Versuche wurden hauptsächlich nach Bergells Methode mit der Modifikation von Schulze und Winterstein¹⁾ ausgeführt. Nach dem Kochen mit Ammoniumcarbonat und Abfiltrieren der alkoholischen Lösung wird der Alkohol im Vakuum abgedampft und der Abdampfungsrückstand mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird mit Wasser gewaschen, abpipettiert und mit Aceton gefällt. Der Verlust bei dieser Darstellung war sehr bedeutend, und da ich diesen Verlust mit dem langen Kochen mit Alkohol unter Zusatz von Ammoniumcarbonat in Verbindung setzte, verließ ich diese Methode, welche sich vielleicht mit einiger Modifikation zu einer brauchbaren Regenerationsmethode ausbilden läßt.

Die späteren Versuche sind alle unter Anwendung von SH_2 gemacht. Nach Übersättigung mit SH_2 , zum Schluß unter Erwärmung, wird das Cd-Sulfid mittels Warmwassertrichters abfiltriert und mit heißem Alkohol gewaschen. Zur Entfernung des Schwefelwasserstoffs wird das alkoholische Filtrat unter der Luftpumpe (bei niedriger Temperatur) unter Durchstreichen von Luft gekocht. Hierauf wird die salzsaure Lösung teils nach Thudichum (mit Dimercurammoniumhydroxyd) teils nach Strecker (mit frischgefälltem Silberoxyd) behandelt. In beiden Fällen gelang es nach kurzdauernder Digestion und starkem Schütteln das Filtrat vollständig chlorfrei zu machen. Diese Behandlung ist aber von einem bedeutenden Gewichtsverlust begleitet, der sich durch starkes Bleichen der vorher stark gelbgefärbten Flüssigkeit zu erkennen gibt.

Bei der Benutzung von Millons Base:²⁾ $(\text{NHg}_2)_2\text{O}, 2\text{H}_2\text{O}$ erreicht man ganz gewiß eine schnelle Beseitigung der HCl ; da sich aber die Base nur mit einem Äquivalent Säure verbindet, sind zur Erlangung eines sicheren Resultates sehr be-

¹⁾ l. c. S. 101 ff.

²⁾ Millon, Annales de Chimie et de Physique, 3^e Série, T. XVIII, S. 392.

deutende Mengen anzuwenden. Die Prozedur erwies sich, wie gesagt, mit großen Verlusten verbunden und nicht so befriedigend, wie nach Thudichums Angaben zu erwarten war. Beim Versuch wurde die schwarzbräunliche anhydrische Base angewendet, welche nach Millon in Alkohol unlöslich ist. Thudichum scheint¹⁾ dahingegen die gelbweiße, wasserhaltige Base angewendet zu haben, welche in Alkohol nicht ganz unlöslich ist, weshalb er später Spuren von Hg mit SH₂ entfernen muß. Jedoch scheint dieser Unterschied keine wesentliche Bedeutung für das Resultat zu haben, indem dies nicht besser als dasjenige zu sein scheint, das ich nach Streckers Behandlung mit frisch gefälltem Silberoxyd erhielt. Um anzudeuten, wie unbefriedigend sie war, referiere ich einen einzelnen Versuch:

19 g der Fraktion II (d. i. der ätherlösliche Teil des CdCl₂-Niederschlages), deren Zusammensetzung durch die Formel C₃₅H₆₆N₂PO₁₂, 2 CdCl₂ ausgedrückt wird, werden nach sorgfältiger Pulverisierung in absolutem Alkohol suspendiert. Unter Umrühren wird SH₂ zugeleitet. Schließlich erwärmt man auf ca. 45° C., worauf die Schwefelwasserstoffzuleitung fortgesetzt wird, bis sich das Cadmiumsulfid von der obenstehenden, gelbgefärbten Lösung absetzt. Es wird dekantiert und mittels Warmwassertrichters filtriert. Der Niederschlag wird mit frischem Alkohol behandelt, der unter leichtem Erwärmen und Umrühren mit SH₂ gesättigt wird. Die klaren gelben Filtrate, welche bei der Abkühlung beginnende Fällung aufweisen (HCl-Phosphatide?), werden unter der Luftpumpe zur Hälfte eingeeengt. Trotz wiederholter Luftdurchleitung während des Eindampfens behält die Lösung doch einen unangenehmen Geruch (vergl. Ulpianis Angaben). Sie ist bei moderater Erwärmung vollständig klar, von braungelber Farbe und reagiert deutlich sauer auf Lackmuspapier. Der Flüssigkeit wird ein bedeutender Überschuß frischgefällten Ag₂O zugesetzt, bis sie nach gründlichem Schütteln Lackmuspapier bläulich färbt. Das Filtrat gibt dann nicht mehr mit alkoholischer Silbernitratlösung HCl-Reaktion. Nach dem Abfiltrieren der Silberverbindungen (AgCl

¹⁾ l. c. S. 169.

und Ag_2O) werden diese mit warmem Alkohol gewaschen, worauf die Filtrate vereint und mit SH_2 gesättigt werden, um gelöstes Ag_2O zu entfernen. Nach dem Abfiltrieren gefällten Silbersulfids wird das Filtrat baldmöglichst unter der Luftpumpe abgedampft. Der Abdampfungsrückstand wiegt ca. 9 g, während die Menge theoretisch ca. 12 g betragen sollte. Es ist also rein quantitativ ein bedeutender Verlust vorhanden. Ein Teil desselben rührt schon von der ersten SH_2 -Behandlung her. Der SH_2 -Niederschlag, welcher getrocknet und gewogen wurde, enthielt die ganze Cd-Menge (gewichtsanalytisch als CdSO_4 bestimmt); aber das Gewicht des Niederschlages war doch über 1 g größer als das Gewicht des gefällten Cadmiumsulfids (berechnet), so daß mithin bei der Schwefelwasserstoffällung sicherlich ein Teil organische Stoffe verloren gegangen sind, wenn nicht die Spaltung trotz aller Sorgfalt unvollständig verblieben ist. Der übrige Verlust muß dann auf die Behandlung mit Ag_2O und die damit verbundenen Prozeduren zurückzuführen sein. Hätte man, wie Ulpiani, jegliche Erwärmung vermieden, so hätte sich der Ertrag quantitativ als bedeutend ungünstiger erwiesen, da die Verbindung nach der SH_2 -Behandlung Neigung zur Fällung in kaltem Alkohol aufzuweisen schien. Indessen hat das gewonnene Produkt — das sowohl frei von Cd wie auch von Cl ist — nicht die zu erwartende Zusammensetzung und muß sogar dekomponiert sein.

Der erwähnte Abdampfungsrückstand, der in absolutem Alkohol leicht löslich ist — etwas schwerer in Äther — gibt in ätherischer Lösung einen Niederschlag mit Aceton und in alkoholischer Lösung einen solchen mit alkoholischen CdCl_2 - und Platinchloridlösungen. In diesen Beziehungen scheint mithin nichts Verdächtiges zu herrschen, außer daß das Produkt mit kaltem Aceton bei weitem nicht quantitativ gefällt wird. Aber die Analysen ergaben, daß der P- und N-Gehalt anstatt der berechneten 4,21% P und 3,81% N, vielmehr 3,82% P und 2,56% N ($\text{N} : \text{P} = 1,48 : 1$) war.

In der Hoffnung, die Spaltungsprodukte entfernen zu können, wurde in Äther gelöst und mit Aceton gefällt. Das Produkt nimmt hierdurch an Menge ab und enthält dann 4,86% P und

3,17% N. Sowohl der P- und N-Gehalt waren demnach größer geworden, jedoch war das Verhältnis N:P unverändert (1,44:1).

Der Versuch, das freigemachte Phosphatid aus der CdCl_2 -Verbindung herzustellen, war hiermit als mißlungen zu betrachten, indem unter den hierzu vorgenommenen Prozeduren eine Dekomposition stattgefunden hatte. Ich darf mich über deren Natur nicht mit Bestimmtheit äußern, jedoch scheint es nicht unwahrscheinlich, daß außer dem von Ulpiani und Bergell erwähnten dekomponierenden Einfluß des Schwefelwasserstoffs von einer saponifizierenden Einwirkung des Silberoxyds, das ja in geringem Grad in Alkohol löslich ist, die Rede sein kann. Wie wichtig mir auch diese Frage für das Studium der Phosphatide vorkommt, welche durch ihre CdCl_2 -Verbindungen isoliert werden sollen, so muß ich mich doch hier darauf beschränken, festzustellen, daß ich mittels der früher empfohlenen Methoden keine befriedigenden Resultate zu erreichen vermochte.

Einen Beitrag zur Erforschung der Konstitution des als CdCl_2 -Verbindung isolierten Phosphatids mußte ich deshalb versuchen durch Verseifung der CdCl_2 -Verbindung zu erhalten.

Das Verfahren war identisch mit dem für die Untersuchung der Phosphatide des Ätherextraktes beschriebenen.

Es wurden teils mit dem ätherlöslichen Teil des Chlorcadmiumniederschlags, teils mit dem ganzen Chlorcadmiumniederschlag ($\text{C}_{40}\text{H}_{75}\text{N}_2\text{PO}_{12}, 2\text{CdCl}_2$) Versuche gemacht. Während der Verseifung entwickeln sich alkalisch reagierende Dämpfe, aber selbst bei langdauerndem Kochen destillieren nur ganz geringe Mengen basischer Verbindungen über. Nach der Verseifung werden die Säuren wie früher beschrieben hergestellt und titriert. Die Säuren waren phosphorfrei oder gaben nur Spur von P-Reaktion. Aus folgender Übersicht, in welcher die Buchstaben dieselbe Bedeutung wie früher haben, geht hervor, wie gering im Vergleich mit den oben analysierten Phosphatiden die Säuremenge ist und wie dies durch die Äquivalentberechnung erklärt wird. Das Titrieren der Säuren ist mit größerer Schwierigkeit als bei den früher untersuchten Phosphatiden verbunden, da sie dunkler gefärbt sind. Der Schwierigkeit läßt sich durch starke Verdünnung mit Wasser während des Titrierens wesentlich abhelfen.

	p	Fettsäuren	Prozent der org. Mol.	n	M	x
$C_{40}H_{75}N_2PO_{12}$, 2 $CdCl_2$	5 g	1,51 g = 30,20%	43,90	4,230	1172,4	0,99
»	7 »	2,24 » = 32,00%	46,51	6,064	1172,4	1,02

Hieraus folgt, daß jedes Molekül nur 1 Fettsäureradikal enthält¹⁾.

Die Elementaranalyse der aus $C_{40}H_{75}N_2PO_{12}$, 2 $CdCl_2$ hergestellten Fettsäure ergab 71,61% C und 10,68% H. Hieraus wird die Zusammensetzung der Fettsäure (auf dieselbe Weise wie oben) auf $C_{22}H_{39}O_4$ berechnet (Atome: C 21,75, H 38,82, O 4,04).

Zum Nachweis von Glycerinphosphorsäure und Isolieren der basischen Bestandteile wird Verseifung mit Barytwasser benutzt, wonach man nach der früher beschriebenen Weise verfährt.

Die wässrige Lösung des als glycerinphosphorsauren Baryum angesehenen Stoffes wird mit Bleiacetat in schwach essigsaurer Lösung gefällt. Der hierdurch entstandene Niederschlag gab starke Acroleinreaktion sowie starke Phosphorreaktion. Obwohl weder der P-Gehalt noch der Pb-Gehalt vollkommen so hoch war, wie glycerinphosphorsaures Blei erfordert, so herrscht doch hiernach kein Zweifel darüber, daß die Verbindung Glycerin in Verbindung mit Phosphorsäure enthält. Vorläufig ist es unentschieden, worauf die Abweichung beruht.

Die Platinchloridfällung der basischen Bestandteile bildete nach Umkrystallisation aus Wasser orangegelbe Krystalle, von denen die größten lange, nadelförmige Prismen bildeten, während die kleineren eher polyedrische Krystalle waren, welche hie und da an Oktaeder erinnerten, jedoch sonst unregelmäßig waren. Hexagonale Tafeln ließen sich nicht beobachten, und die Krystalle erinnerten überhaupt nicht an Cholinplatinchlorid. Das

¹⁾ Die Resultate waren für den ätherlöslichen Teil des $CdCl_2$ -Niederschlages vollständig übereinstimmend.

Produkt gab beim Glühen deutlichen Trimethylamingeruch und hinterließ 32,62% Pt.

Es geht aus diesen Daten hervor, daß die Verbindung in mehreren Beziehungen an Thudichums Sphingomyelin¹⁾ erinnert, das nach seiner Auffassung nur ein Fettsäurenradikal außer 2 N-haltigen Radikalen und eine Alkoholradikal enthalten soll. Nimmt man an, daß das eine N-haltige Radikal weniger fest gebunden ist — so wie es mit dem Sphingomyelin der Fall ist — so gäbe eine teilweise Dekomposition eine Mischung von Stoffen mit den Relationen $N : P = 2 : 1$ und $N : P = 1 : 1$. Dies war gerade bei dem besprochenen Regenerationsversuch des Phosphatides der Fall. Man fand — unter allen Symptomen einer stattgefundenen teilweisen Zersetzung — einen wesentlich höheren Phosphorgehalt, während das Verhältnis $N : P = 1,44 : 1$ war.

Außer diesen Analogien mit dem Sphingomyelin verhält es sich gegenüber $CdCl_2$ — ebenso wie Thudichums Diamidophosphatide — wie ein dipolares Alkaloid. Das Hauptphosphatid (oder die Phosphatidgruppe) des Alkoholextraktes ist mithin als ein Diamido-Monophosphatid aufzufassen, dessen $CdCl_2$ -Verbindung ein Säureradikal, eine Glycerin-Gruppe und 2 N-haltige Radikale enthält. Das Säureradikal unterscheidet sich von denen, welche in den Phosphatiden des Ätherextraktes gefunden wurden, durch seinen bedeutend höheren Sauerstoffgehalt, der ihm das Gepräge einer Oxyfettsäure verleiht.

Es liegt kein Grund zu der Annahme vor, daß der enthaltene Alkohol nicht hier wie in den übrigen Phosphatiden Glycerin²⁾ sein sollte, da die Untersuchungen doch bestimmt das Vorhandensein von Glycerin zwischen den Spaltungsprodukten ergeben haben. Die Natur der basischen Elemente habe ich nicht genauer bestimmen können. Ein einzelner Versuch spricht allenfalls dafür, daß es sich nicht ausschließlich um Cholin handelt.

¹⁾ l. c. S. 112 und 169—173.

²⁾ Thudichums Sphingomyelin enthält kein Glycerin.

Das Darstellungsverfahren dieser Gruppe der Phosphatide des Herzens deutet darauf, daß dieselben an andere Stoffe gebunden sein müssen. Es handelt sich vielleicht um Bindung an Albuminstoffe, so wie Hoppe-Seyler ursprünglich annahm; jedoch haben meine Untersuchungen keine diesbezüglichen Aufklärungen zu geben vermocht. Liebermanns Untersuchungen¹⁾ stützen die Annahme derartiger Verbindungen. Wie sich nun auch immer die Verhältnisse gestalten mögen, so sind die aus dem primären Ätherextrakt und die aus dem sekundären Alkoholextrakt des Herzens gewonnenen Phosphatide von vollständig abweichender chemischer Zusammensetzung. Das eingehendere Studium dieser Diamidophosphatide läßt sich kaum fördern, bevor die Frage über das Verhältnis der Phosphatide zu CdCl_2 gelöst ist — besonders inwieweit die Verbindungen mit diesem oder anderen Metallsalzen als reine Additionsprodukte aufzufassen sind — und bevor man ein vollständig unschädliches (s. nicht dekomponierendes) Verfahren zur Regeneration der Phosphatide besitzt.

Das Filtrat der CdCl_2 -Fällung.

Wo das Ausgangsmaterial — wie hier — schon vom größten Teil der vorkommenden Beimischungen befreit ist, sollte man angenommen haben, daß alle Phosphatide durch die Fällung mit CdCl_2 entfernt werden müßten. Indessen zeigt es sich, daß die Phosphatide ebenso wenig mittels CdCl_2 als mittels Aceton quantitativ gefällt werden. Ob es darauf beruht, daß die CdCl_2 -Verbindungen in geringem Grad in Alkohol löslich sind, oder daß es Phosphatide mit in Alkohol leichtlöslichen CdCl_2 -Verbindungen gibt, oder vielleicht, daß es Phosphatide gibt, welche keine Verbindungen mit CdCl_2 eingehen, ist nicht möglich gewesen zu entscheiden, da ich auch hier bei der Entfernung des Cadmiumchlorids aus den organischen Bestandteilen des Filtrates auf Schwierigkeiten stieß. Die Untersuchungen trugen daher nicht zur Lösung der Frage über

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. L, S. 25; Bd. LIV, S. 573.

die Art dieser P-haltigen Substanzen bei, deren Menge indes nur gering war.

Untersuchungen der Phosphatide der quergestreiften Muskeln.

Als Supplement zu den Untersuchungen über die Phosphatide des Ochsenherzens habe ich einige Untersuchungen über die Phosphatide in den quergestreiften Muskeln derselben Tierart vorgenommen.

Die Präparation der unmittelbar nach dem Schlachten der Tiere ausgeschnittenen Schenkelmuskeln (Adduktoren) ist genau auf dieselbe Weise ausgeführt wie betreffs des Ochsenherzens beschrieben. Zur Untersuchung verwendete ich ca. 10 1/2 kg fast fettfreie Muskeln, welche 48 Stunden nach dem Schlachten zu 2062 g feinem Pulver verarbeitet waren.

Im Laufe von 7 Tagen wurden mittels 5 Ätherbehandlungen im ganzen ca. 46 g Ätherextrakt gewonnen. Zwischen jeder Extraktion wurde das Muskelpulver sorgfältig ausgepreßt. Weiteres, 14 tägiges Stehen und starkes Auspressen ergab nur einen Extrakt von ca. 2 g. Die vereinigten Ätherextrakte wogen mithin im ganzen nur ca. 48 g (ca. 2,33%). Dieses Resultat war im Vergleich mit dem Ätherextrakt des Herzens außerordentlich gering, selbst wenn die Muskeln nur wenig interstitielles Fettgewebe enthielten. Bei der darauf folgenden Alkoholextraktion gewann man schon mit kaltem Alkohol in 24 Stunden ungefähr ebenso viel Extrakt (ca. 40 g) wie bei sämtlichen Ätherextraktionen. Bei der zweiten Alkoholbehandlung (Extraktion auf Wasserbad bei 40—45° C.) wurden ca. 88 g Extrakt gewonnen. Innerhalb 7 Tagen gewann man bei 4 Alkoholextraktionen im ganzen ca. 192 g Alkoholextrakt (ca. 9,31%). Hiermit wurde die Extraktion abgeschlossen, obwohl weitere Extraktionen zweifellos noch eine unbedeutende Extraktmenge ergeben haben könnten. Die Extrakte waren gelb gefärbt, von neutraler Reaktion.

Das Ätherextrakt.

46 g der eingedampften Ätherextrakte werden wie früher beschrieben behandelt. Man gewinnt hierbei ca. 17 g acetonunlösliche Stoffe, von denen fast 2/3 zur Fraktion c gehören.

Von den Fraktionen b_I und b_{II} werden 1,1 resp. 1,5 g gewonnen. Die verschiedenen Produkte haben denselben Charakter wie die entsprechenden bei der Ätherextraktion des Herzens gewonnenen. Nur betreffs der Fraktion c gelang es eine vollständige Analyse durchzuführen.

Die Fraktion b_I , die also nur in äußerst geringer Menge im Vergleich mit den Verhältnissen beim Herzen gefunden wurde, bildete hellbraune, harzige Massen, welche 4,55% P und 0,93% N ($N : P = 1 : 2,21$) enthielten.

Die Fraktion b_{II} bildete schneeweiße, fettähnliche Massen, welche sich leicht in Äther, schwer in kaltem Alkohol und Aceton lösten. Sie war absolut phosphorfrei und reduzierte nach dem Kochen mit verdünnter H_2SO_4 Fehlingsche Lösung nicht. Sie erinnert an Zuelzers an einer ähnlichen Stelle der Untersuchung gefundenes Tripalmitin und ist ebenfalls frei von Phosphatiden und jecorinartigen Substanzen.

Das Hauptprodukt des Ätherextraktes der Muskeln ist die Fraktion c. Diese hatte vom Anfang ein Gewicht von ca. 10 g und bildete somit die Hauptmenge des gesamten Acetonniederschlages. Bei wiederholten sorgfältigen Reinigungsversuchen schwindet sie derart ein, daß nur ca. 6 g hellgelbe, wachsartige Massen von gleichem Aussehen und mit denselben physikalischen Eigenschaften wie das Lecithin (c) des Herzens übrig bleiben.

Eine Doppelt-Analyse der Substanz gab folgende Resultate:

	%	%	Durchschnitt %	Atome (P = 1)	Berechnet für $C_{43}H_{80}NPO_9$ %
C	65,84	66,08	65,96	43,38	65,70
H	10,19	10,21	10,20	80,28	10,21
N	1,84	1,80	1,82	1,02	1,79
P	3,95	3,90	3,93	1	3,95
[O]	—	—	18,09	8,93	18,33

Beim Vergleich dieses Präparates mit den Analysen des Lecithins (c) des Herzens wird man finden, daß die einzelnen

Bestimmungen und die gewonnenen empirischen Formeln $C_{43}H_{80}NPO_9$ einander ganz entsprechen. Dieser Umstand spricht vielleicht noch mehr als die während der Herzuntersuchungen aufgeführten übereinstimmenden Analysen dafür, daß das Produkt wirklich ein chemisches Individuum, ein Lecithin ist, dessen Wasserstoffgehalt wegen der enthaltenen wasserstoffarmen Fettsäuren gering ist. Es kann hinzugefügt werden, daß ich bei Untersuchungen von Hühnereidottern, welche ohne vorhergehende Austrocknung, aber übrigens nach demselben Schema wie die Muskeln untersucht wurden, gefunden habe, daß das Ätherextrakt des Eidotters bedeutende Mengen Phosphatide enthielt, welche fast alle zur Fraktion c gehörten. Dieses Eilecithin, das vor der Analyse längerer Einwirkung der Luft ausgesetzt gewesen war, gab annähernd dieselbe Formel, nämlich $C_{44}H_{80}NPO_{11}$.

Ich habe demnach in keinem Fall Lecithin mit so hohem Wasserstoffgehalt gefunden, wie die üblichen Lecithinformeln angeben.

Es geht aus obenstehenden Bemerkungen hervor, daß das Ätherextrakt der Muskeln — mit dem der Herzmuskulatur verglichen — eine auffallend geringe Menge Phosphatide enthält. Von Diphosphatiden findet man nur eine Spur, und von Monophosphatiden ist die Menge bedeutend geringer als im Herzen. Das erhaltene Monophosphatid war mit dem aus dem Herzen hergestellten Lecithin (c) identisch. Dieser Unterschied zwischen dem Herzmuskel und den quergestreiften Muskeln harmoniert gut mit dem von Rubow¹⁾ konstatierten bedeutenden Unterschied in der Phosphatidmenge, berechnet nach dem Phosphorgehalt der Extrakte. Das Defizit der Muskeln ist demnach zum großen Teil dem geringen Gehalt unmittelbar ätherlöslicher Phosphatide zuzuschreiben.

Das Alkoholextrakt.

Während das Ätherextrakt der Muskeln erstaunlich gering war, war das Alkoholextrakt ungefähr ebenso groß wie der

¹⁾ l. c.

des Herzens. Zwei Bestimmungen der Menge des Alkohol-extraktes ergaben für das Herz resp. 9,56% und 9,79% Alkoholextrakt, während hier 9,31% gewonnen wurden. Das Alkoholextrakt wurde derselben Behandlung unterworfen, wie S. 123 beschrieben. Es wurde hierbei in Fraktionen getrennt, für welche dieselben Benennungen benutzt sind. Aus untenstehender Übersicht geht das Mengenverhältnis der Fraktionen hervor, und es wird zum Vergleich eine ähnliche Übersicht über die entsprechenden Fraktionen des Alkohol-extraktes des Herzens bei einer einzelnen Darstellung aufgestellt. Die Übersicht gibt naturgemäß nur ein grobes Bild der Verhältnisse, indem sämtliche Zahlen nur rein annähernd sind.

Alkoholextrakt vom Herzen (angewendete Menge ca. 155 g)			Alkoholextrakt von Muskeln (angewendete Menge ca. 170 g)	
	Gewichtsmenge g	Prozent	Gewichtsmenge g	Prozent
α	ca. 10	6,45	ca. 12	7,01
β	» 35	22,58	» 98	57,65
Acetonlösung	» 16	10,32	» 11	6,47
γ	» 4	2,58	» 3,5	2,06
δ	» 80	51,61	» 35	20,59
Verlust . . .	» 10	6,46	» 10,5	6,22

Erinnert man sich, daß sich die Hauptmenge des Phosphors in den Fraktionen γ und δ befindet, so geht aus dem Vergleich hervor, daß diese zusammen nur halb so groß im Extrakt der Muskeln wie in denen der Herzen sind, während die Muskeln andererseits große Mengen der Fraktion β enthalten, die wesentlich aus der nicht eingehender studierten säureartigen Substanz besteht, welche durch ihren hohen N-Gehalt, ihre Fähigkeit, CdCl_2 -Verbindungen zu bilden, und ihre Analogien mit Siegfrieds Muskelnucleon charakterisiert ist.

Der Vergleich zeigt demnach, daß der geringere Phosphatidgehalt der Muskeln nicht nur auf einem geringeren Phosphatidgehalt im Ätherextrakt beruht, sondern auch auf einem

bedeutend geringeren Gehalt derartiger Phosphatide, welche erst bei der Alkoholbehandlung befreit werden.

Von den verschiedenen Fraktionen wurde nur δ einer genaueren Untersuchung unterworfen. Es soll indes bemerkt werden, daß auch β , welche, wie gesagt, auch hier in bedeutender Menge angetroffen wird (ca. 5% der Trockensubstanz) in allen Beziehungen an das entsprechende Produkt des Herzens erinnert und ebenso wie dieses Phosphor enthält. Die Fraktion γ reduziert auch Fehlingsche Lösung nach dem Kochen mit verdünnter H_2SO_4 ; jedoch ist die Reduktionsfähigkeit nur sehr gering.

Die alkoholische Lösung von δ wird mit einer alkoholischen $CdCl_2$ -Lösung gefällt. Der entstehende Niederschlag wird sorgfältig mit absolutem Alkohol gewaschen und im Vakuum nach dem Absaugen des Alkohols getrocknet. Die leichten, gelbweißen Massen lassen sich leicht zu einem feinen, staubigen Pulver zerdrücken, welches ganz an den $CdCl_2$ -Niederschlag des Alkoholextraktes des Herzens erinnert. Die Analysen dieses Produktes weichen von diesem jedoch nicht so wenig ab.

	%	%	Durchschnitt %	Atome (P = 1)
C	40,96	40,32	40,64	43,95
H	6,46	6,40	6,43	83,22
N	1,95	1,96	1,96	1,81
P	2,39	2,38	2,39	1
Cd	19,77	19,87	19,82	2,29
[Cl]	—	—	12,53	4,59
[O]	—	—	16,23	13,16

Die Analysen entsprechen mithin annähernd der Formel $C_{44}H_{83}N_2PO_{13}$, $2 CdCl_2$, aber dem Verhältnis $P : N : CdCl_2 = 1 : 1,8 : 2,3$, so daß das Produkt ein nicht wenig verunreinigtes Diamidophosphatid zu sein scheint. Aber jedenfalls geht doch hieraus hervor, daß sich auch im Alkoholextrakt der Muskeln wesentlich Diamidophosphatide vorfinden.

Diese Untersuchung der Ochsenmuskeln be-

stätigte, daß dieselben bedeutend kleinere Mengen Phosphatide als das Ochsenherz enthalten. Es ist gelungen, die Anwendbarkeit der angegebenen Methode an einem anderen Material zu prüfen, und es hat sich gezeigt, daß man auch hier im Ätherextrakt nur Monoamidophosphatide, im Alkoholextrakt wesentlich Diamidophosphatide bekommt. Es geht ferner aus einigen von mir mit Hühnereidottern angestellten Untersuchungen hervor, daß diese wohl wesentlich Monoamidophosphatide (Lecithin etc.) enthalten, welche in dem primären Ätherextrakt aufgenommen werden, daß sich jedoch auch Phosphatide mit höherem N-Gehalt vorfinden, welche sich durch nachfolgende Extraktion mit Alkohol gewinnen lassen.

Es scheint mithin Grund zu der Annahme vorhanden zu sein, daß die angegebene Methode allgemeine Anwendung zur Trennung von Monoamidophosphatiden und Diamidophosphatiden finden kann, falls es sich nicht zeigen sollte, daß es anderswo auch Monoamidophosphatide gibt, welche zu ihrer Lösung eine Alkoholbehandlung erfordern.

Es gelang nicht, im Eidotter ein Phosphatid vom Charakter oder von der Zusammensetzung des Cuorins zu finden, und in den Muskeln war dieses Diphosphatid höchstens in Spuren vorhanden. Im Gehirn haben weder Thudichum noch andere Untersucher Stoffe gefunden, welche eine ähnliche Zusammensetzung aufwiesen.

Der bedeutende Gehalt an Diphosphatiden (Cuorin) ist deshalb vorläufig als etwas dem Herzen Eigentümliches zu betrachten.

Es handelt sich demnach nicht nur um einen quantitativen, sondern auch um einen qualitativen Unterschied des Phosphatidgehalts der Herzmuskeln und der quergestreiften Muskeln. Es läßt sich annehmen, daß beide Teile sowohl für die besonderen Funktionen des Herzens, wie auch für die besondere Affinität gewisser Gifte zu der Herzmuskulatur Bedeutung haben. Derart betrachtet, gewinnt die Frage über die Fähigkeit der verschie-

denen Phosphatide, Verbindungen mit Stoffen, wie Alkaloide, Glykoside etc. etc., einzugehen, erhöhtes Interesse.

Résumé.

Es gibt im Organismus eine Reihe verschiedener, komplexer, organischer Verbindungen, welche das gemeinschaftliche Kennzeichen besitzen, daß sie Glycerinphosphorsäure in (wahrscheinlich ätherartiger) Verbindung mit einer oder mehreren basischen Radikalen und einem oder mehreren Fettsäureradikalen enthalten. Ebenso wie die Fettstoffe, sind die meisten in Äther löslich¹⁾ (ohne doch alle unmittelbar mit Äther extrahiert werden zu können), unterscheiden sich jedoch u. a. von diesen dadurch, daß sie sich mit Wasser feuchten lassen und schließlich mit diesen eine Art colloidale Lösungen bilden.

Diese Substanzen, deren Verbreitung für ihre außerordentliche Bedeutung für das Leben des Organismus spricht, werden nach Thudichums Vorschlag Phosphatide²⁾ benannt.

Die Bezeichnung umfaßt sämtliche organische Substanzen, welche die obengenannten, gemeinsamen Charaktere aufweisen, unbeachtet ihres verschiedenen physikalischen Verhaltens und ihrer verschiedenen chemischen Struktur, und ist daher ein Substitut für die veraltete Benennung «Lecithin», welche jetzt nur auf eine bestimmte, näher charakterisierte Gruppe innerhalb der Klasse der Phosphatide anzuwenden ist. Durch Untersuchungen des Gehirns hat Thudichum die dort vorkommenden Phosphatide in Gruppen trennen können, welche durch bestimmte, einfache Verhältnisse zwischen dem im Molekül enthaltenen N und P charakterisiert werden.

Thudichums und meine Untersuchungen, welche mit verschiedenem Material und auf verschiedene Art ausgeführt sind, haben zur Charakterisierung von Phosphatiden etwas verschiedener Zusammensetzung geführt; jedoch haben sie dasselbe Hauptresultat ergeben: Der alte Lecithinbegriff, welcher

¹⁾ Thudichum gibt an, auch ätherunlösliche Phosphatide isoliert zu haben. Ich habe bei meinen Untersuchungen keine solche gefunden.

²⁾ Koch hat später die Benennung Lecithane vorgeschlagen.

wohl verschiedene Lecithine umfaßte, aber als Unterschied nur eine Variation der substituierten Fettsäureradikale gestattete, ist zu verlassen und mit einem neuen, umfassenden zu ersetzen, welcher auf das Resultat dieser Untersuchungen Rücksicht nimmt.

Bis eine mehr rationelle Einteilung der Phosphatide möglich wird, scheint es, daß folgende Einteilung (eine Erweiterung der Thudichumschen Einteilung) angewendet und eventuell suppliert werden kann:

1. Monoamido-Monophosphatide ($N:P = 1:1$).
2. Monoamido-Diphosphatide ($N:P = 1:2$).
3. Diamido-Monophosphatide ($N:P = 2:1$).
4. Diamido-Diphosphatide ($N:P = 2:2$).

Diese rein schematische Einteilungsweise läßt sich vorläufig nicht durch eine mehr rationelle ersetzen. Sie fällt indes mit dem Hauptunterschied zusammen, der sich mit Rücksicht auf die Monoamidophosphatide und Diamidophosphatide geltend macht, indem sich die letzteren, wenigstens in den von mir untersuchten Organen nicht direkt mit Äther extrahieren lassen und deshalb als auf eine andere und festere Art gebunden, als die erstgenannten zu betrachten sind, deren freies Auftreten nicht verneint werden kann.

1. Die Monoamido-Monophosphatide (die Lecithin-Kephalingruppe) ist die bekannteste und vielleicht am meisten verbreitete im Organismus. Man hat in keinem der untersuchten Gewebe Phosphatide dieser Art vermißt, ebenfalls haben frühere Untersucher beständig Substanzen dieser Gruppe gefunden.

Die Zusammensetzung des in Ochsenmuskeln und Ochsenherz vorkommenden Lecithins war $C_{43}H_{80}NPO_9$ und eine ähnliche Zusammensetzung wurde für die im Hühnereidotter vorgefundene konstatiert.

Die 2 Fettsäureradikale im Lecithinmolekül sind im Gegensatz zu der allgemeinen Annahme so wasserstoffarm, daß sie jedenfalls teilweise der Linol- oder Linolensäurereihe angehören.

Das Verhältnis der $CdCl_2$ -Verbindungen und der Platinchloridverbindungen ist noch nicht genügend bestimmt.

2. Die Monoamido-Diphosphatide, deren einzigst bekannten Repräsentanten, das Cuorin, ich aus dem Ochsenherz hergestellt habe, enthält 2 Phosphorsäureradikale, welche jedenfalls zum Teil an Glycerin gebunden sind. Das Molekül enthält 3 Fettsäureradikale wasserstoffarmer Säuren sowie ein basisches Radikal, welches nicht mit Cholin identisch ist. Die empirische Formel des Cuorins ist $C_{71}H_{125}NP_2O_{21}$. Es hat in vielen Beziehungen Eigenschaften mit den übrigen Phosphatiden gemein, darunter auch diejenige, daß es mit Metallsalzen schwerlösliche Verbindungen eingeht. Es zeichnet sich durch seine Unlöslichkeit in Alkohol und durch seine hervorragende Autoxydabilität aus, wodurch sich seine physikalischen Eigenschaften bei der Oxydation verändern.

3. Die Diamido-Monophosphatide. Diese existieren kaum frei im Organismus, sondern sind an andere Elemente gebunden, so daß sie — obschon in Äther löslich — nicht direkt damit extrahiert werden können. Erst nach der Behandlung des pulverisierten Gewebes mit Alkohol, wobei die Albuminstoffe koagulieren, werden sie aus ihren Verbindungen frei gemacht, und sind hiernach in Äther löslich. Inwiefern diese Verbindungen als Verbindungen von Phosphatiden mit Albuminstoffen (Lecithin-albumin [Liebermann]) aufzufassen sind, oder ob es sich um andere Verbindungen handelt, läßt sich vorläufig nicht bestimmen. Jedoch haben die derart gebundenen Phosphatide einen anderen Bau und vielleicht auch andere Eigenschaften als die Monoamidophosphatide. Es ist mir nicht gelungen, die Diamidophosphatide allein mit Hilfe physikalischer Methoden, sondern nur als Verbindungen mit Metallsalzen zu isolieren. Es ist früher hervorgehoben, welchen Zweifel ich mit Rücksicht auf die Chlorcadmiumverbindungen hege, besonders betreffs der Frage, ob sie als einfache Additionsprodukte aufzufassen sind. Aus diesen Gründen muß ich mich mit der Feststellung begnügen, daß sich das Diamidophosphatid des Herzens mit 2 Molekülen $CdCl_2$ verbindet und bei wiederholten Darstellungen die Zusammensetzung $C_{40}H_{75}N_2PO_{12}, 2 CdCl_2$

gehabt hat, sowie daß diese Verbindung nur ein Fettsäureradikal enthält.

Entsprechend Thudichums Diamidophosphatiden (Amidomyelin und Sphingomyelin) verhält sich das Diamidophosphatid des Herzens gegenüber CdCl_2 wie ein dipolares Alkaloid. Betreffs der Konstitution ist es im Einklange hiermit und mit dem Resultat meiner Untersuchungen, vorläufig als Glycerinphosphorsäure aufzufassen, in welcher ein Säureradikal und 2 basische Radikale substituiert sind (welche jedes 1 Atom N enthält).

Die organische Säure, welche in diese Verbindung eingeht, ist von den aus den Monoamidophosphatiden gewonnenen verschieden, indem sie bedeutend mehr Sauerstoff enthält.

Die Basen sind jedenfalls teilweise verschieden von Cholin.

Die Diamidophosphatide scheinen sich in den meisten Geweben vorzufinden. Der gebundene Zustand, in welchem sie sich in den Geweben finden, scheint ihre besondere Stellung als ein integrierender Teil des Zellkörpers anzudeuten.

4. Diamido-Diphosphatide sind nur von Thudichum isoliert, und nur mit Rücksicht auf dessen Untersuchungen, habe ich diese Gruppe mit erwähnt, da ich keine Phosphatide dieser Zusammensetzung in den von mir untersuchten Geweben nachgewiesen habe.

Meine Untersuchungen haben keine Aufklärungen über das Jecorin und das Protagon ergeben, von denen nur von dem ersten Spuren in den Alkoholextrakten nachgewiesen sind.

Bezüglich der Ausbildung einer quantitativen Phosphatidbestimmungsmethode sind meine Bestrebungen vergeblich gewesen. Diese wichtige Aufgabe wartet noch ihrer Lösung. Die Hoppe-Seylersche Berechnungsweise ist indessen als unanwendbar zu erklären, selbst wenn in den Extrakten keine anderen P-haltigen Stoffe als die Phosphatide sich finden, nachdem ich Phosphatide so verschiedenen P-Gehalts wie das Lecithin

(3,95% P) und das Cuorin (4,47%) nachgewiesen habe. Aus ähnlichen Gründen ist die von Koch und Woods¹⁾ angegebene quantitative Lecithinbestimmung nicht anzuerkennen. Diese scheint außerdem auf die Diamidophosphatide keine Rücksicht zu nehmen.

Meine Untersuchungen haben schließlich ergeben, daß sich dieses Ziel nicht durch Chlorcadmiumfällung erreichen läßt, teilweise weil diese Fällung nicht quantitativ ist, teilweise weil es alkohollösliche Stoffe gibt, welche von Chlorcadmium gefällt werden, die jedoch keine Phosphatide sind.

Zum Schluß sei es mir gestattet, meinem hochgeehrten Lehrer Herrn Professor Dr. med. Johs Bock meinen aufrichtigsten Dank für den mir unter der Ausführung dieser Arbeit geleisteten Beistand zu sagen.

¹⁾ l. c.
