

Über die Phosphatide des Eigelbs.

I. Teil.

Von

M. Stern und H. Thierfelder.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 24. August 1907.)

Wir beabsichtigten die Untersuchung der Lecithinchlorcadmiumverbindung und begannen, um Material für die Gewinnung dieser Verbindung zu erhalten, die Darstellung des Lecithins aus Eigelb. Diese Darstellung gestaltete sich allmählich zu einer Untersuchung der Phosphatide des Eigelbs, über deren ersten Teil, welcher die durch Äther extrahierbaren Phosphatide betrifft, wir in folgendem berichten.

Es ist uns gelungen, ein in Alkohol schwer lösliches, ein in Äther schwer lösliches und ein in Alkohol sowie in Äther lösliches Phosphatid zu isolieren. Wie weit diese Substanzen Anspruch auf Reinheit machen können, soll später erörtert werden.

Vorbemerkungen.

Die Zweckmäßigkeit, das Ausgangsmaterial zu entwässern und darauf zunächst einer Äther- und dann einer Alkoholextraktion zu unterwerfen, haben wir schon bei der Untersuchung der Gehirnsubstanzen kennen gelernt. Sie ist auch von anderen Seiten betont, ganz besonders in jüngster Zeit von Erlandsen¹⁾ in seiner durch ihre Exaktheit und ihre Resultate ausgezeichneten Arbeit über die lecithinartigen Substanzen des Myocardiums und der quergestreiften Muskeln. Viele in dieser Arbeit enthaltenen Beobachtungen und Erfahrungen sind uns bei unserer Untersuchung von Nutzen gewesen.

Um Wiederholungen zu vermeiden, sei gleich von vornherein bemerkt, daß wir ausschließlich wasserfreie Lösungsmittel (Alkohol, Äther, Aceton) verwendeten und daß alle Operationen unter

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 71.

möglichst vollständigem Ausschluß von Licht und Luft vor sich gingen. Wir benutzten dunkle Flaschen, Büchsen, Exsikkatoren, nahmen alle Destillationen in mit dichtem schwarzen Tuch umgebenen Apparaten vor, sättigten die Flüssigkeiten, wenn sie länger als einige Minuten stehen sollten, mit Kohlensäure und ließen in das Vakuum, sofern die in ihm enthaltenen Substanzen noch feucht waren, nicht Luft, sondern trockene Kohlensäure ein. Alle Exsikkatoren waren auf ihr Vermögen das Vakuum dauernd zu halten geprüft. Die vor dem Öffnen in sie eintretende Luft war völlig trocken. Alle Eindampfungen wurden im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen, nur bei alkoholischen Lösungen wurde das Wasserbad auf Körpertemperatur erwärmt.

Alle Prüfungen auf Löslichkeit wurden mit der völlig getrockneten Substanz und in mit gut schließenden Glasstopfen versehenen Büchsen vorgenommen, da man bei dem außerordentlich großen Einfluß, den geringe Spuren von Wasser auf die Löslichkeit der Phosphatide haben, nur auf diese Weise sichern Aufschluß erhält. Auch die Lösungen haben wir ausschließlich in verschlossenen Büchsen ausgeführt und die zu lösenden Substanzen vorher im Exsikkator ganz trocken werden lassen.

Die Kohlenwasserstoffbestimmungen wurden im offenen Rohr mit Kupferoxyd und reichlichen Mengen gepulverten Bleichromats, mit dem die Substanz auf das innigste gemischt worden war, ausgeführt, die Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl, die Phosphor- und Chlorbestimmungen nach A. Neumann,¹⁾ die Calciumbestimmungen nach der vor kurzem von Aron²⁾ angegebenen sehr empfehlenswerten Methode. Chlor und Calcium lassen sich nach diesen Verfahren sehr bequem in derselben Probe ermitteln.

Darstellung.

Das frischen Eiern entnommene Eigelb wurde, in dünner Schicht auf Glasplatten ausgebreitet, einem Flügelventilator ausgesetzt. Behandelte man es ab und zu mit einem Spatel, so daß auch die unteren noch feuchten Teile an die Oberfläche

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

²⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. IV, S. 268.

kamen, so schritt die Trocknung im Laufe eines halben Tages so weit vor, daß sich die Masse mit einem Hackmesser in kleine Stücke zerteilen ließ. Nachdem sie im Vakuum während längeren Verweilens noch 6,2% Wasser abgegeben hatte, wurde sie in Arbeit genommen. Sie enthielt jetzt nur noch 1,3% Wasser, wie an einer kleinen bis zum konstanten Gewicht getrockneten Probe festgestellt wurde. Die auf diese Weise aus 100 frischen Eiern erhaltene Masse (887 g) wurde mit etwa 1½ l Äther stundenlang geschüttelt und auf großer Nutsche abfiltriert, das Filtrat im Vakuum eingeengt und mit Aceton ausgefällt, der eine zusammenhängende weiche hellgelbe Masse bildende Niederschlag mit Aceton durchgeknetet und unter Aceton aufgehoben. Diese Behandlung haben wir viermal wiederholt, beim fünften Mal ist die durch Aceton erhaltene Fällung nur sehr gering. Da die Filtration sehr langsam vor sich ging, so haben wir, um die Einwirkung des Luftsauerstoffs auszuschließen, über die Nutsche einen großen, die Nutsche in sich einschließenden Trichter mit dem Trichterrohr nach oben angebracht und durch das Trichterrohr einen starken Strom trockener Kohlensäure eintreten lassen und außerdem durch Einhüllen des ganzen Apparates in ein großes schwarzes Tuch die Einwirkung des Lichtes ausgeschaltet.

Die Äther-Acetonfiltrate, welche außer Fett usw. noch 0,448 g P enthielten, sind noch nicht untersucht worden.

Die vereinigten Acetonfällungen¹⁾ wurden in einer Büchse mit Äther übergossen und nach Einleiten von Kohlensäure stehen gelassen. Am nächsten Tage trennten wir die ätherische Lösung von dem geringen grauweißen ungelösten Teil durch Zentrifugieren. Daß der Äther nicht alles lösen würde, hatten wir erwartet, denn beim Absaugen der Ätherauszüge waren die ersten 10—20 ccm trübe durchgegangen. Es befand sich also etwas Vitellin in den Filtraten, welches nun bei der neuerlichen Ätherbehandlung ungelöst zurückbleiben mußte. Der Zentrifugenrückstand wurde deswegen verworfen. Spätere Erfahrungen haben uns aber gelehrt, daß er außer

¹⁾ Vergleiche auch die Tabelle, welche alle von uns ausgeführten Operationen enthält.

Vitellin auch noch «weiße Substanz» (siehe später) enthalten haben muß. Die von dem Bodensatz abgegossene, ganz klare ätherische Lösung wurde im Vakuum stark eingeengt, mit Aceton versetzt, die Fällung wiederholt mit Aceton durchgeknetet und im Vakuum getrocknet. Die Masse wog jetzt 41 g. Sie wurde in verschließbarer Büchse mit wenig Äther übergossen; es bildete sich alsbald eine trübe Flüssigkeit, welche so schnell als möglich von dem Ungelösten in Zentrifugiergläser gegossen und zentrifugiert wurde. Auf den in der Büchse zurückbleibenden Teil wurde neuer Äther gegossen, ein wenig umgeschüttelt, die trübe Flüssigkeit schnell abgegossen, zentrifugiert, und so weiter, bis sich nichts mehr in der Büchse befand. Das ganze Verfahren muß möglichst beschleunigt werden, da ununterbrochen Lösung der die Trübung verursachenden Substanz erfolgt. Eine Filtration ist nicht möglich, da der feine Niederschlag von dem Filter nicht völlig zurückgehalten wird, das Filter sich auch alsbald verstopft. Beim Zentrifugieren setzt sich die Suspension sehr schnell zu Boden und zwar als schnee-weiße Masse, welche im folgenden als «weiße Substanz» bezeichnet werden wird.

Die abgegossene klare ätherische Lösung wird eingeengt, der Rückstand nach Behandlung mit Aceton im Vakuum getrocknet und noch einmal in der beschriebenen Weise mit Äther behandelt. Es wurde noch etwas weiße Substanz abgetrennt, bei nochmaliger Wiederholung des ganzen Verfahrens aber nur noch sehr wenig. Beim Übergießen der trockenen Masse mit Äther bildete sich zwar wieder eine trübe Flüssigkeit, die die Trübung bedingende Substanz begann aber sofort sich zu lösen, so daß durch Zentrifugieren nur sehr wenig isoliert werden konnte. Eine völlige Abtrennung der weißen Substanz war also keineswegs gelungen.

Die klare ätherische Lösung enthielt nun neben Phosphatiden noch viel Fett und auch Cholesterin. Um diese Substanzen zu entfernen wurde sie nur wenig eingeengt und mit Aceton gefällt, die trübe Acetonlösung wird vom Niederschlag abgegossen und konzentriert, wobei sich Fett und Phosphatid abscheiden, der Niederschlag selbst, nach Durchkneten mit Aceton,

getrocknet, in Äther gelöst und die ätherische Lösung derselben Behandlung unterworfen. Dieses Verfahren wurde wiederholt, bis die abgegossene Äther-Acetonlösung beim Einengen kein Fett, sondern nur Phosphatid abschied. Das Nähere siehe in der Tabelle. (Die aus den vereinigten trüben Äther-Acetonlösungen erhaltenen Phosphatide wurden durch Fällung aus ätherischer Lösung mit Aceton vom Fett befreit. Ihr Gewicht betrug 3—4 g. Jodzahl 69,3. Sie sind nicht weiter untersucht worden.)

Die in dieser Weise vom Fett befreite Hauptmenge der Phosphatide wog getrocknet 22 g. Aus ätherischer Lösung scheidet sie sich durch Aceton als dickes Öl ab, welches bei weiterer Behandlung mit Aceton zu einer weichen, knetbaren Masse wird. Getrocknet erscheint sie als harte, sehr hygroskopische gelbbraune Substanz.

Sie wurde in völlig trockenem Zustande mit viel Alkohol übergossen. Es löste sich beim Stehen ein Teil auf, ein anderer aber blieb ungelöst und zwar zum Teil in feiner Suspension, zum Teil als bräunliche, klebrige Masse an Boden und Wandungen haftend. Die trübe Flüssigkeit wurde abgegossen und zentrifugiert und der dabei erhaltene sirupöse Bodensatz mit den in der Büchse verbliebenen klebrigen Anteilen vereinigt und in Äther gelöst. Wir erhielten also so eine (den in Alkohol unlöslichen Teil enthaltende) ätherische und eine alkoholische Lösung.

a) Die ätherische Lösung. Sie wurde nach ziemlich starkem Einengen mit Alkohol gefällt, der Niederschlag zunächst mit Alkohol und nach Abgießen des Alkohols mit Aceton verrieben. Dabei nahm er alsbald pulverige Beschaffenheit und hellgelbe Farbe an. Im Vakuum getrocknet wog er 5 g. Er löste sich nicht klar in Äther. Die ätherische Flüssigkeit wurde zentrifugiert, von geringem grauen Bodensatz abgegossen, eingeengt, der Rückstand in derselben Weise mit Alkohol und Aceton behandelt und im Vakuum getrocknet. (Die abgegossenen trüben Alkohol-Acetonlösungen schieden nach dem Einengen noch etwas in Alkohol unlösliche Substanz ab, welche offenbar mit der Hauptmenge identisch ist, aber nicht weiter untersucht worden ist.)

Die Hauptmenge löste sich nach völligem Trocknen in Äther nicht sofort klar, aber nach kürzester Zeit (innerhalb einer Minute) erfolgt völlig klare Lösung. Alkoholschwerlösliche Substanz (4—5 g).

b) Die alkoholische Lösung. Sie schied nach dem Einengen auf Zusatz von Aceton eine leicht orange gelbe zusammenhängende weiche plastische Masse ab, welche auch bei wiederholter Behandlung mit neuen Acetonmengen niemals krümelig wurde. Nach dem Trocknen löste sie sich zwar in Alkohol ziemlich vollständig, die Lösung wird aber auf Zusatz von mehr Alkohol stark getrübt. Sie enthielt also noch alkoholschwerlösliche Beimengungen. Um diese zu entfernen, wurde die Behandlung (Zentrifugieren, Einengen, Fällung mit Aceton, Trocknen im Vakuum, Lösen in Alkohol) so lange wiederholt, bis die getrocknete Substanz sich in Alkohol klar löste. Die Einzelheiten siehe in der Tabelle. (Außer der Hauptmenge wurden bei diesem Verfahren eine Reihe von Zentrifugierrückständen und von trüben Acetonlösungen erhalten (siehe Tabelle). Die ersteren gehören offenbar zu der in Alkohol schwerlöslichen Substanz, wurden aber nicht mit dieser vereinigt und nicht weiter untersucht. Die letzteren wurden eingeengt und die Rückstände mit Aceton behandelt. Es schied sich eine weiche knetbare Masse ab von derselben physikalischen Beschaffenheit wie die Hauptmenge. Getrocknet wog sie 5,2 g. Sie löste sich klar in Äther und Alkohol, auch beim Abkühlen der ätherischen Lösung fand nur ganz minimale Abscheidung in Form weißer Wolken statt. Jodzahl 57,3. Sie ist nicht weiter untersucht worden.) Die Hauptmenge löste sich also jetzt klar in Alkohol auf, eine völlige Abtrennung der alkohollöslichen Substanzen war aber doch nicht erreicht, denn die bei Zimmertemperatur hergestellte völlig klare Lösung trübte sich beim Abkühlen auf 0° etwas und die durch schnelles Zentrifugieren abgetrennte Substanz erwies sich nun als in Alkohol unlöslich. Auch in Äther erfolgte keine klare Lösung. In der oben (S. 373) beschriebenen Weise gelang es noch eine kleine Portion weißer Substanz abzutrennen. Schließlich wurden etwa 4 g eines in Alkohol und in Äther sich klar lösenden Körpers erhalten. Alkohol- und ätherlösliche Substanz.

Acetonfällungen mit Äther behand. Trübe Flüssigkeit zentrif.

Lösung	Rückstand
verdunst., Rückst. m. Acet. gekn.	verworfen.
Feste Masse	Acet.-Lsg.
getr. (41 g), m. Äther beh., zentrif.	enth. Fett, Cholest., Phosphat.

Lösung	Rückstand
verdunst., Rückst. m. Acet. gekn.	weiße Substanz.
Feste Masse	Acet.-Lsg.
getr., m. Äther beh., zentrif.	enth. Fett, Cholest., Phosphat.

Lösung	Rückstand
verdunst., Rückst. m. Acet. gekn.	weiße Substanz.
Feste Masse	Acet.-Lsg.
getr. (Jodzahl 68,4), m. Äther beh., zentrif.	enth. Fett, Cholest., Phosphat.

Lösung	Rückstand
etwas eingengt, m. Acet. gefällt	weiße Substanz in sehr gering. Menge.

Feste Masse	Trübe Äth.-Acet.-Lsg.	} scheiden beim Einengen Fett und Phosphatid ab.
getr., in Äther gel., Lsg. m. Acet. gefällt.		
getr., in] Feste Masse	Trübe Äth.-Acet.-Lsg.	
Äther gel., Lsg. m. Acet. gef., solange ölige Abschdg.		
durchmehr] Ölige Masse	Trübe Äth.-Acet.-Lsg.	} scheiden beim Einengen kein Fett ab.
Acet. fest, getr., in Äth. gel., Lsg. m. Acet. gefällt.		
Ölige Masse	Trübe Äth.-Acet.-Lsg.	
ebenso behandelt.		

durchmehr] Ölige Masse	Trübe Äth.-Acet.-Lsg.
Acet. fest, getr. (22 g), m. Alkohol behandelt.	scheidet beim Einengen kein Fett ab.

Die aus diesen Äther-Aceton-Lösungen gewonnenen und vom Fett befreiten Phosphatide wiegen getrocknet 3-4 g. Jodzahl 69,3.

Sie werden vereinigt und scheiden nach Einengen auf Acetonzusatz weiche knetbare Masse ab. Getrocknet (etwa 5 g) löst sie sich klar in Äther und Alkohol. Jodzahl 57,3.

Lösung	Rückstand
eing. u. mit Acet. gefällt.	
Trübe Alk.-Acet.-Lsg.	Weiche knetb. Masse
	getr., mit Alk. beh., zentrif.
Lösung	Rückstand
eing., m. Acet. gef.	
Trübe Alk.-Acet.-Lsg.	Weiche knetb. Masse
	getr., m. Alk. beh., zentrif.
Lösung	Rückstand
eing., m. Acet. gef.	

Sie werden vereinigt und geben beim Einengen nur sehr geringen Rückstand.

Lösung	Rückstand
eing., m. Acet. gef.	
Trübe Alk.-Acet.-Lsg.	Weiche knetb. Masse
	getr., m. Alk. bei 0° beh., zentrif.
Lösung	Rückstand
eing., m. Acet. gef.	
Trübe Alk.-Acet.-Lsg.	Weiche knetb. Masse
	getr. (Jodzahl 52,96), in Alk. klar lösl., bei 0° [trübe, zentrif.]
Lösung	Rückstand
eing., m. Acet. gef.	
Trübe Alk.-Acet.-Lsg.	Weiche knetb. Masse
	getr., in Alk. klar lösl., bei 0° trübe, bei Zimmertemp. wieder [klar, mit Äther beh., zentrif.]
Lösung	Rückstand
eing., m. Acet. beh., getr., m. Äth. beh., zentrif.	weiße Substanz.

Lösung	Rückstand
ebenso beh., Rückstand in Alkoh. u. Äther löslich, 4 g.	weiße Substanz.

Ungelöster Teil. In Äther gel., Lsg. konz., m. Alk. gef., m. Alk. u. Acet. zerrieb.

Pulverige Masse	Trübe Alk.-Acet.-Lsg.
getr. (5 g), m. Äther beh., zentrif.	scheidet n. Konz. in Alk. unl. S. ab.
Lösung	Rückstand
eingengt, m. Alk. gef., mit Acet. beh.	grauweiß, sehr gering.

Pulverige Masse	Trübe Alk.-Acet.-Lsg.
4-5 g in Äther löslich.	scheidet n. Konz. etwas in Alk. unl. S. ab.

Die isolierten Substanzen.

Die äther- und alkohollösliche Substanz. Sie ist auf keinen Fall rein, enthält vielmehr, wie aus den bei der Darstellung gemachten Beobachtungen hervorgeht, noch Beimengungen von der weißen und der alkoholschwerlöslichen Substanz. Von letzterer hätte jedenfalls durch Abkühlen der alkoholischen Lösung und schnelles Zentrifugieren noch etwas entfernt werden können. Da aber eine völlige Entfernung und ebenso eine völlige Entfernung der weißen Substanz wegen der gegenseitigen Löslichkeitsbeeinflussung und der keineswegs völligen Unlöslichkeit in den Lösungsmitteln auf diesem Wege ausgeschlossen ist, so haben wir auf eine weitere Reinigung verzichtet, um noch Material für einige orientierende Analysen zu behalten.

Die Substanz verhält sich im allgemeinen wie «Lecithin». Sie zeigt orangerote Farbe und behält auch nach völligem Trocknen im Vakuum ein etwas feuchtes Aussehen. Sie läßt sich wohl zerdrücken, aber nicht pulverisieren, da sie ganz außerordentlich hygroskopisch ist. Ein momentanes Öffnen des Röhrchens genügt, um die einzelnen Partikelchen zum Zusammenbacken und Kleben an die Glaswandungen zu bringen. Auffallenderweise nimmt sie verhältnismäßig schnell konstantes Gewicht an. In Alkohol und Äther löst sie sich. Die Trübung, welche die alkoholische Lösung beim Abkühlen auf 0° erfährt, ist, wie erwähnt, auf eine Beimengung anderer Substanz zu beziehen. Die alkoholische Lösung reagiert deutlich sauer und gibt mit alkoholischem Bleiacetat Niederschlag.

Die Analysen¹⁾ ergaben folgende Werte:

1. 0,1201 g liefern 0,2846 g CO₂ = 64,63% C
2. 0,1691 » » 0,1668 » H₂O = 10,96% H
3. 0,4160 » verbrauchen 6,15 ccm n₁₀-H₂SO₄ = 2,07% N
4. 0,3062 » » 4,60 » » = 2,10% N
5. 0,3106 » » 21,60 » n₂-NaOH = 3,85% P
6. 0,3070 » » 22,65 » » = 4,09% P
7. 0,2361 » binden 0,115 g Jod.

¹⁾ Da die Substanz während des Verreibens mit gepulvertem Bleichromat, das zur Erreichung vollständiger Verbrennung des Kohlenstoffs sehr sorgfältig gemacht werden mußte, ihrer stark hygroskopischen Eigenschaften wegen zu viel Wasser aufnahm, haben wir Kohlenstoff und Wasserstoff nicht gleichzeitig, sondern in besonderen Analysen bestimmt.

Das Verhältnis von P : N ist wie 1 : 0,77. Geht man von der Voraussetzung aus, daß das Verhältnis in der reinen Substanz sich wie 1 : 1 verhält, so kann man zur Erklärung der vorhandenen Abweichung an eine Beimengung entweder von anorganischer Phosphorsäure oder von einem Diphosphatid denken. Die erstere Annahme findet eine Stütze in dem Gehalt der Substanz an Calcium, zu dessen Bindung das gefundene Chlor nicht ausreicht. Nach Abzug des dem Chlor entsprechenden Calciums bleibt ein Rest von 0,855% Ca, welcher wohl von Phosphorsäure gebunden sein könnte. Die der Stickstoffmenge entsprechende Phosphormenge unter Annahme des Verhältnisses 1 : 1 beträgt 3,04%. Gefunden sind 3,96%, die Differenz beträgt also 0,92% P. 0,855 Ca verlangt als CaHPO_4 0,662 P, als $\text{CaH}_4\text{P}_2\text{O}_8$ 1,325 g P. Es könnte also ein Gemenge von diesen beiden Phosphaten vorhanden sein, es könnte aber auch nur CaHPO_4 vorhanden sein und der Rest der Phosphorsäure an Alkalien gebunden sein. Eine Entscheidung, ob eine derartige Erklärung das richtige trifft, dürfte die Untersuchung des Präparates nach vorausgegangener Behandlung mit Salzsäure liefern. Leider hatten wir kein Material mehr, um diesen Versuch auszuführen. Ein anderes Präparat, nach ganz demselben Verfahren, ebenfalls aus frischen Eiern gewonnen, welches auch Ca und Cl enthielt, aber in anderen Mengen (0,556% Cl und 0,8% Ca), zeigte von vornherein ein Verhältnis von P : N wie 1 : 1 (gef. 1 : 0,93), welches sich auch nach der Säurebehandlung nicht änderte (1 : 0,97). Es konnte also zur Lösung der Frage nicht dienen. Berücksichtigt man aber, daß Calcium, wie es scheint, in den meisten Phosphatiden vorkommt und auch in solchen, welche P : N = 1 : 1 enthalten, und weiter, daß Diakonow¹⁾ ein Phosphatid in Händen hatte, dessen ätherische Lösung beim Schütteln mit verdünnter Salzsäure an diese wohl Calcium aber keine Phosphorsäure abgab, so wird man die Annahme, daß unsere Substanz anorganisch gebundene Phosphorsäure enthalte, fallen lassen und sich der Ansicht zuwenden müssen, daß das von 1 abweichende Verhältnis zwischen P und H auf Beimengung eines andern Phosphatids zu schieben ist.

¹⁾ Med.-chem. Unters., herausgeg. von Hoppe-Seyler, 2. Heft, S. 225 (1867).

Das oben erwähnte Präparat, welches seinem Phosphorstickstoffverhältnis nach zu urteilen, das reinere zu sein scheint, zeigte ganz dasselbe äußere Verhalten und auch dieselben Löslichkeitsverhältnisse, wick nur insofern ab, als es mit Äther übergossen, zunächst sagoartige oder gallertartige Beschaffenheit annahm und dann erst in Lösung ging. Analysen sind von ihm nicht ausgeführt worden.

Ein drittes Präparat, nach demselben Untersuchungsgang und an derselben Stelle gewonnen, allerdings nicht aus frischem Eigelb, sondern aus einer trockenen käuflichen aber (nach Geruch und Aussehen) untadeligen Ware, stimmte in äußern Eigenschaften und Löslichkeitsverhältnissen mit den vorigen überein, wurde aber erst allmählich nach längerem Verweilen im Vakuum pulverisierbar und zeigte eine wesentlich andere Zusammensetzung.

1. 0,2143 g liefern 0,4693 g CO₂ u. 0,1858 g H₂O = 59,73% C u. 9,63% H
2. 0,1273 » » 0,2783 » » » 0,1128 » » = 59,62% » » 9,84% » »
3. 0,3869 » verbrauchen 4,35 ccm n/10-H₂SO₄ = 1,57% N
4. 0,4023 » » 4,5 » » = 1,57% N
5. 0,2673 » » 17,7 » n/2-NaOH = 3,67% P
6. 0,3216 » » 20,9 » » = 3,60% P

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Mittel	Kephalin von Thudichum	Kephalin von Koch
C	59,73	59,62	—	—	—	—	59,68	60,00	59,5
H	9,63	9,84	—	—	—	—	9,74	9,38	9,8
N	—	—	1,57	1,57	—	—	1,57	1,68	1,75
P	—	—	—	—	3,67	3,60	3,64	4,27	3,83
P : N	1 : 0,96							1 : 0,87	1 : 1,01

Wie sich aus der Tabelle ergibt, zeigt dieses Präparat eine ähnliche Zusammensetzung, wie das zuerst von Thudichum¹⁾ und später auch von Koch²⁾ aus dem Gehirn isolierte Kephalin. Auch die Löslichkeitsverhältnisse und die Eigenschaft, im Vakuum erst allmählich pulverisierbar zu werden, entsprechen den von Thudichum für das Kephalin gemachten Angaben.

¹⁾ Die chemische Konstitution des Gehirns, S. 127.

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

Wir wissen zur Zeit keine Erklärung für die Unterschiede, welche die von uns nach dem gleichen Verfahren dargestellten Substanzen zeigen. Vielleicht spielt das Alter der Eier eine Rolle. Weitere Untersuchungen, mit denen wir beschäftigt sind, werden hoffentlich Aufschluß geben.

Das am längsten bekannte und am besten untersuchte, in Alkohol schwer- oder unlösliche Phosphatid, ist das Kephalin. Schulze und Likiernik¹⁾ und Schulze und Winterstein²⁾ fanden derartige Substanzen in Pflanzensamen. Sie erhielten aus mit Äther völlig extrahierten Samen von Lupinen und Wicken durch Alkoholbehandlung ein Rohlecithin, aus dem sie durch Behandlung mit warmem absoluten Alkohol bei 50° ein in diesem Lösungsmittel sehr schwer lösliches Lecithin abtrennen konnten. Das mit Alkohol gewaschene und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Präparat «bildet eine nur wenig gefärbte, zerreibliche nicht in Aceton, dagegen leicht in Chloroform und Äther lösliche Masse». Der Phosphorgehalt schwankte in den Präparaten verschiedener Darstellung von 3,9—3,10%. In einem aus *Vicia sativa* gewonnenen Präparat, welches 3,10% P enthielt, wurde auch eine Stickstoffbestimmung ausgeführt. Diese ergab 1,05% N, so daß das Verhältnis von P : N = 1 : 0,75 war. Ein aus *Lupinus albus* gewonnenes Lecithin enthielt nach dem Kochen mit viel Weingeist nur 2,86% P. Hierbei kann, wie auch Schulze und Winterstein betonen, eine Zersetzung erfolgt sein. Das Verhältnis von P : N war auch in diesem Präparat wie 1 : 0,75.

Die Übereinstimmung im physikalischen Verhalten und im Phosphorstickstoffverhältnis zwischen diesen aus Pflanzensamen gewonnenen Präparaten und unserem Präparat aus Eigelb ist gewiß bemerkenswert.

Äther schwerlösliche Substanz. Zu ihrer Gewinnung dient die oben erwähnte «weiße Substanz», welche gleich im Anfang der Darstellung bei der Behandlung der Acetonfällung mit Äther als Rückstand erhalten worden war. Sie wurde zuerst zum Zweck völliger Entfernung aller in Äther leicht löslicher

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 405.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 112.

Beimengungen mehrmals in Äther suspendiert und durch Zentrifugieren wieder zur Abscheidung gebracht. Dieses Reinigungsverfahren war, da der Körper selbst in Äther nicht ganz unlöslich ist, besonders bei Gegenwart anderer Stoffe, mit Verlusten verbunden, aber nicht zu vermeiden. Nun behandelten wir ihn bei 40—50° mit Alkohol und filtrierten von einem Rückstand, welcher die Biuret- und Millonsche Reaktion gab, also jedenfalls Vitellin enthielt, ab. Die alkoholische Lösung wurde eingeeengt und mit Aceton gefällt. Der Niederschlag, welcher zunächst flockig war, aber die vielen Phosphatiden eigene Neigung zusammenzukleben, in geringem Maße zeigte, wurde abfiltriert, mit Aceton und Äther gewaschen und getrocknet. Die Substanz stellte jetzt eine völlig weiße Masse dar. Die Ausbeute ist eine sehr geringe, aus 100 Eiern wurde nur etwa $\frac{3}{4}$ g erhalten. Allerdings war die Abtrennung von den andern Phosphatiden, wie oben besprochen, keineswegs eine vollständige und die Reinigung mit Verlusten verbunden, aber trotzdem kann man sagen, daß sie an Menge gegenüber den beiden andern Phosphatiden sehr zurücktritt. Freilich ist keineswegs ausgeschlossen, daß die Filtrate der ersten Acetonfällungen des Ätherextraktes noch von dieser Substanz enthalten.

Die Substanz behält auch im nicht verdunkelten und nicht evakuierten Exsikkator dauernd ihre weiße Farbe bei. Sie läßt sich leicht pulverisieren und zeigt eine noch geringere Hygroskopizität wie die alkoholschwerlösliche. Sie löst sich nur wenig in Äther; in Alkohol ist sie besonders beim Erwärmen löslich und scheidet sich beim Erkalten der nicht zu verdünnten Lösung in längeren oder kürzeren, geraden oder gekrümmten Nadeln, welche radiär angeordnet sind und bald lockere bald dichtere Rosetten bilden, ab. In Chloroform löst sie sich leicht. Die alkoholische Lösung, welche neutral reagiert, wird durch Cadmiumchlorid und durch Bleiacetat gefällt. In Wasser schwillt die Substanz nicht auf. Beim Erhitzen im Kapillarröhrchen färbt sie sich allmählich leicht gelb, bei 169—170° schmilzt sie zu einem braunroten Öl. Beim Kochen mit Säuren spaltet sie kein die Fehlingsche Lösung reduzierendes Kohlenhydrat ab.

Die Analyse ergab folgende Resultate:

1. 0,1766 g liefern 0,4413 g CO₂ u. 0,1942 g H₂O = 68,15% C u. 12,22% H
2. 0,1272 » » 0,3176 » » » 0,1381 » » = 68,10% » » 12,06% »
3. 0,3439 » verbrauchen 6,80 ccm n/10-H₂SO₄ = 2,77% N
4. 0,3114 » » 18,11 » n/10-NaOH = 3,22% P
5. 0,0963 » ¹⁾ binden 0,03307 g Jod.

	1.	2.	3.	4.	Mittel	Berechnet für C ₅₄ H ₁₁₁ N ₂ PO ₈	Berechnet für C ₅₄ H ₁₁₃ N ₂ PO ₈	Apo- myelin	Sphingo- myelin	Amido- myelin	Substanz aus dem Herz- muskel. Aus der CdCl ₂ -Verbin- dung berechnet
C	68,15	68,10	—	—	68,13	68,43	68,24	67,01	65,37	62,4 bis 62,9	59,48
H	12,22	12,06	—	—	12,14	11,83	12,01	11,35	11,29	—	9,42
N	—	—	2,77	—	2,77	2,96	2,95	3,00	2,96	—	3,47
P	—	—	—	3,22	3,22	3,27	3,27	3,23	3,24	—	3,84

Jodzahl 34,3.

P : N = 1 : 1,9.

Qualitativ wurde die Anwesenheit von Chlor und von Spuren Calcium festgestellt.

Wie aus dem Phosphorstickstoffverhältnis hervorgeht, liegt hier ein (wenn auch noch nicht ganz reines) Diaminomonophosphatid vor. Die Existenz von Körpern dieses Typus wurde zuerst von Thudichum²⁾ im Gehirn nachgewiesen. Er isolierte drei derartige Substanzen, die er als Apomyelin, Sphingomyelin und Amidomyelin bezeichnet. Solche Verbindungen wurden später von Hammarsten³⁾ in der Eisbäregalle und vor kurzem von Erlandsen⁴⁾ in den Herzmuskeln und den Schenkelmuskeln des Ochsen aufgefunden. Die Substanz aus der Eisbäregalle, welche als Chlorcadmiumverbindung abgeschieden wurde, ist nicht genauer untersucht worden. Mit den von Thudichum und von Erlandsen erhaltenen Körpern stimmt der von uns isolierte nicht überein, wie die in der Tabelle aufgeführten analytischen Zahlen zeigen. Die gefundenen Werte entsprechen etwa den Formeln C₅₄H₁₁₁N₂PO₈ oder C₅₄H₁₁₃N₂PO₈. Während aber die Substanz aus den Muskeln auch insofern

¹⁾ Hierzu diente die kleine Menge weißer Substanz, welche zuletzt noch aus dem alkohol-ätherlöslichen Phosphatid abgetrennt war.

²⁾ a. a. O., S. 160.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 528.

⁴⁾ a. a. O.

sich anders verhält, als sie in Äther löslich ist, sind Sphingomyelin und Amidomyelin in mancher Beziehung unserem Präparat sehr ähnlich. Sie krystallisieren nach Thudichum in mikroskopischen Tafeln und Nadeln, welche sternartig aneinandergesetzt sind. Sie lösen sich in kaltem Alkohol und Äther nur sehr wenig, werden aus ihren alkoholischen Lösungen durch Chlorcadmium gefällt. Von Amidomyelin wird weiter angegeben, daß es im Vakuum zu einer ganz weißen Masse, welche sich pulverisieren läßt, trocknet, von Sphingomyelin, daß es nach dem Trocknen nicht wachsig wird, sondern opak und pulverisierbar bleibt. Über das Apomyelin liegen nähere Angaben nicht vor.

Erlandsen hat das Diaminophosphatid aus den mit Äther erschöpften Muskeln durch nachfolgende Alkoholextraktion gewonnen. Auch von den Hühnereidottern gibt er an, daß sie nach vorausgegangener Erschöpfung mit Äther an Alkohol Phosphatide mit höherem Stickstoffgehalt abgeben. So werden wir vermutlich bei der Untersuchung des Alkoholauszugs der Substanz wieder begegnen.

Für diese Arbeit standen uns von der medizinischen Fakultät der Universität Berlin bewilligte Mittel aus der Gräfin Bose-Stiftung zur Verfügung.
