

Beiträge zur Kenntnis der aus Cerealien darstellbaren Phosphatide.

IV. Mitteilung. Über Phosphatide.

Von

E. Winterstein und **K. Smolenski**, Dozent in St. Petersburg.

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. Januar 1909.)

Bekanntlich hat man aus Weizenmehl bis jetzt kein Phosphatidpräparat darstellen können, welches im Phosphorgehalt mit demjenigen des eigentlichen Lecithins annähernd übereinstimmt. E. Winterstein und O. Hiestand¹⁾ haben einmal ein Cerealienphosphatid aus Weizenmehl erhalten, welches einen Phosphorgehalt von 2,58% aufwies. Da nun der Gehalt dieses Präparates an Kohlenhydrat — berechnet aus der Menge der beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gebildeten Glukose — nur etwa 17% betrug, so nehmen die Genannten an, daß das Weizenmehlphosphatid vielleicht eine Verbindung eines Kohlenhydratlecithins mit noch anderen unbekanntem Komplexen darstellt.

Die von uns nun zu beschreibenden Versuchsergebnisse beweisen nun, daß das aus dem Weizenmehl durch Extraktion mit Alkohol darstellbare Phosphatid ein kompliziertes Gemisch repräsentiert, welches neben phosphorhaltigen Verbindungen auch phosphorfreie einschließt.²⁾ Im folgenden beschreiben wir die Art und Weise der Zerlegung des Ausgangsmaterials in die einzelnen Bestandteile, und am Ende die Resultate, welche bei der Spaltung des einen Phosphatids erhalten wurden.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 295.

²⁾ E. Winterstein hat im käuflichen Eierlecithin eine freie Fettsäure nachgewiesen.

Die Darstellung des Ausgangsmaterials geschah nach der von E. Winterstein und O. Hiestand angegebenen Vorschrift durch Behandeln des zuvor von der Stärke befreiten Weizenmehls mit Alkohol und Eindunsten des Extraktes bei möglichst niedriger Temperatur.

Darstellung bzw. Reinigung des Rohpräparates.

Das Rohmaterial repräsentiert eine bräunlich-gelbe, harte, spröde Masse; 220 g davon wurden durch längeres Erwärmen mit viel Äther allmählich in Lösung gebracht. Dabei ergab sich, daß ein Teil des Präparates leicht, ein geringerer Teil sehr schwer im Äther löslich war. Aus dem im Äther leicht löslichen Anteil schieden sich beim Erkalten weiße, stark glänzende Krystallblättchen aus, welche wir mit Nr. 3 bezeichnen. Die von den Krystallen getrennte Lösung wurde weiter konzentriert und auf diese Weise eine zweite Krystallfraktion erhalten, Nr. 5, die davon getrennte ätherische Lösung wurde durch Destillation vom Äther befreit, der dabei verbliebene sirupöse Rückstand wurde mit reinem Aceton ausgekocht, es resultierte eine in Aceton leicht und eine in Aceton unlösliche Fraktion, letztere bezeichnen wir mit Nr. 8. Aus dem in Aceton leicht löslichen Anteil schieden sich Krystalle Nr. 9 aus. Die davon getrennte Flüssigkeit gab eine Mutterlauge Nr. 10. Diese drei erhaltenen Krystallfraktionen wurden vereinigt und, wie unten weiter beschrieben, behandelt. Der in Aceton unlösliche Anteil Nr. 8 bildet den Hauptbestandteil des Ausgangsmaterials. Über die weitere Verarbeitung zur Herstellung eines Phosphatides werden wir weiter unten berichten. Zuvächst beschreiben wir die Aufarbeitung des in Äther schwer löslichen Anteils. Der in Äther schwer lösliche Rückstand wurde wiederholt mit warmem Alkohol behandelt, dabei blieb ein geringer Anteil als eine feste, braune Masse ungelöst zurück, der größte Teil war im warmen Alkohol löslich. Der im warmen Alkohol unlösliche Anteil wurde nun mit Alkohol lange Zeit gekocht, dabei ging noch eine kleine Menge in Lösung, welche nach Abdampfen des Alkohols ge-

wonnen wurde, Produkt Nr. 13. Es hinterblieb nun Produkt Nr. 14, welches in Alkohol vollkommen unlöslich ist. Die beim Extrahieren mit warmem Alkohol erhaltene Lösung wurde eingedunstet, der Rückstand in der Kälte mit Alkohol behandelt, wobei ein kleinerer Anteil ungelöst zurückblieb. Beide Teile wurden gesondert wie folgt verarbeitet. Die salbenartigen Massen geben beim Verreiben mit Wasser und schwachen Erwärmen eine opalisierende, kolloidale Lösung, welche nur sehr schwer zu filtrieren ist, diese Lösungen wurden mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, bis beim kräftigen Umrühren ein Ausflocken des Phosphatides begann, die von der Flüssigkeit getrennte Ausscheidung Nr. 17 wurde im Äther gelöst; aus der ätherischen Lösung schieden sich Krystalle Nr. 19 aus; die davon getrennte Flüssigkeit Nr. 20 wurde vom Äther befreit und der Rückstand mit Aceton behandelt. Wir erhielten 2 Anteile, eine im Aceton unlösliche Fraktion Nr. 21 und eine darin lösliche, Nr. 22; die erste wurde mit Hilfe von Methylacetat in zwei Fraktionen zerlegt, die in Methylacetat unlösliche wurde mit Nr. 23 und darin lösliche mit Nr. 24 bezeichnet. Auch der in kaltem Alkohol unlösliche Anteil gibt mit Wasser eine kolloidale Lösung, welche durch Ansäuern mit Schwefelsäure ausflockt, Nr. 25; die dabei entstandene Ausscheidung wurde mit Äther und Alkohol behandelt und in zwei Anteile zerlegt, in einen löslichen, Nr. 27, und in einen im Äther und kalten Alkohol unlöslichen Anteil, Nr. 28. Die vom Äther befreite Lösung gab eine krystallinische Ausscheidung, Nr. 29, und eine alkoholische Lösung, Nr. 30. Der in Äther und kaltem Alkohol unlösliche Anteil wurde mit kochendem Alkohol behandelt, es resultierte eine Ausscheidung, Nr. 31, und eine in kaltem Alkohol lösliche Masse, Nr. 32.

Wie auf Seite 506 schon gesagt wurde, macht die Fraktion Nr. 8 den Hauptbestandteil des Ausgangsmaterials aus, es ist die im Äther leicht lösliche Fraktion, welche von den leicht krystallisierenden Substanzen Nr. 9 und Nr. 5 getrennt worden war und welche nach dem Behandeln mit Aceton abermals Krystalle lieferte, welche allem Anscheine nach freie Fettsäuren einschlossen. Die Menge der so erhaltenen Substanz Nr. 8, welche nicht mit Wasser gereinigt worden war, betrug

40 g. Es ist eine dicke, salbenartige Masse, welche noch Krystallblättchen einschließt, sie ist in kaltem Alkohol schwer, im warmen Alkohol, Äther, Chloroform, Toluol, Tetrachloräthan und Pentachloräthan leicht und vollständig, im kochenden Aceton und Methylacetat schwer löslich. Alle Versuche, die Krystalle mit Hilfe von Lösungsmitteln vollständig abzutrennen, waren erfolglos und wir mußten uns daher begnügen, die in beschriebener Weise erhaltenen Präparate ohne weitere Reinigung zu untersuchen. Die Fraktion Nr. 23 beträgt 23 g, es ist ein Präparat, welches in Äther sehr schwer, in kaltem Alkohol aber leicht löslich ist und welches durch Auflösen im Wasser, Fällen mit Schwefelsäure usw. erhalten worden war; dieses Präparat schließt keine Krystalle ein. Nr. 31 ist ein in Äther und kaltem Alkohol unlösliches Phosphatid, welches auch mit Wasser gereinigt worden war, die Quantität dieses Präparates betrug 6 g. Präparat Nr. 30 ist wahrscheinlich ein Gemisch von Phosphatiden. Präparat Nr. 13 ist ein Gemisch von Phytosterin, dessen Estern und enthält wahrscheinlich auch freie Fettsäuren. Nr. 14 ist der Menge nach sehr unbedeutend.

In den drei Präparaten, Nr. 8, 23, 31, welche nach ihrem Verhalten und Darstellung als mehr oder weniger einheitliche Phosphatide anzusprechen sind, wurde der Phosphorgehalt, der Stickstoffgehalt und die Menge der durch Kochen mit Schwefelsäure abspaltbaren Kohlenhydratmengen bestimmt.

		P	N	Kohlenhydrat
Präparat	8. 40 g	1,88%	1,13%	18,2%
»	23. 23 »	1,92%	1,00%	16,6%
»	31. 6 »	1,57%	3,7%	9,65%

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Kjeldahl ausgeführt.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß die Zusammensetzung der beiden ersten Präparate, welche aus demselben Ausgangsmaterial, aber in verschiedener Weise gewonnen worden waren, in ihrer Zusammensetzung annähernd mit einander übereinstimmen und in dieser Beziehung auch sehr wenig von den Präparaten abweichen, welche E. Winterstein und O. Hie-

stand¹⁾ unter den Händen hatten. Auf Grund dieser Ergebnisse darf man wohl behaupten, daß das Verhältnis des Phosphors zum Stickstoff in diesen Phosphatiden aus Weizenmehl 1,8 beträgt, dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß eine kleine Menge des Stickstoffs in den Präparaten als Ammoniak vorhanden ist. Die Zusammensetzung der Fraktion 31 weicht von allen bisher untersuchten pflanzlichen Phosphatiden ab. Dieses Präparat ist durch einen sehr hohen Stickstoffgehalt ausgezeichnet. Das Verhältnis von P zu N in diesem Präparat beträgt 2,4. Dieses Phosphatid weicht auch in seinem physikalischen Verhalten wesentlich von den anderen Phosphatiden ab; es ist im Äther vollständig unlöslich, schwer löslich in kochendem Alkohol, aber leichter löslich in Wasser als andere Phosphatide. Bei schwachem Erwärmen scheidet es sich aus der wässrigen Lösung wieder aus. Es sei darauf hingewiesen, daß in den Nucleinen das Verhältnis von N zu P auch ein sehr hohes ist.

Die mit Nr. 3 und Nr. 5 bezeichneten Krystalle wurden mit der Fraktion 19 vereinigt und durch Umkrystallisieren aus einem Gemisch von Chloroform und Alkohol gereinigt; sie erwiesen sich als Phytosterin. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, wurde noch eine weitere Krystallfraktion 9 durch Behandlung des ätherlöslichen Anteils mit Aceton erhalten. Aus der Acetonlösung scheiden sich nach dem Einengen und Abkühlen ein Gemisch von Krystallen und eine fettige Masse aus. Um die Krystalle von letzterer zu trennen, wurden sie zuerst aus 95%igem Alkohol, dann aus einem Gemisch von Aceton und Alkohol und zuletzt aus Chloroform umkrystallisiert. Es resultierten weiße, glänzende Blättchen, welche auf der Nutsche noch mit 95%igem Alkohol gewaschen und sodann im Exsikkator getrocknet wurden. Diese Krystalle schmelzen bei 91—92°, während das von E. Winterstein und O. Hiestand aus dem Rohphosphatid gewonnene Phytosterin bei 122° schmolz. Diese von uns erhaltene Substanz konnte, nachdem sie so oft umkrystallisiert worden war, kein gewöhnliches Phyto-

¹⁾ O. Hiestand, Beiträge zur Kenntnis der pflanzl. Phosphatide, Dissertation, Zürich 1906; Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 288.

sterin sein, wir halten es für ein Gemisch von freiem Phytosterin und Phytosterinestern. Um daraus das reine Phytosterin darzustellen, wurden die Krystalle, 5,5 g, mit alkoholischer Lauge verseift und der dabei erhaltene unverseifbare Anteil zweimal aus einem Gemisch von Alkohol und Chloroform umkrystallisiert. Die Krystalle schmolzen bei 124°. Die Ausbeute betrug 2,5 g. Da wir unser Hauptaugenmerk auf die phosphorhaltigen Bestandteile lenken mußten, so haben wir die hierbei auftretenden Seifen nicht untersucht.

Wir müssen hier aber noch eine Bemerkung über einen weiteren Bestandteil unseres Ausgangsmaterials hinzufügen. Die Mutterlauge Nr. 10, welche von den Krystallen Nr. 9 getrennt worden war, lieferte noch, nach partiellem Verdunsten des Acetons und Stehenlassen, sternförmige, vereinigte, feine Nadeln, welche sich an den Wandungen des Gefäßes ausgeschieden hatten. Diese Krystalle wurden von dem anhaftenden Sirup durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Methyl- und Äthylalkohol und einmaliges Umkrystallisieren aus Chloroform und Toluol gereinigt. Die gewonnenen Krystalle wurden über Schwefelsäure getrocknet. Diese Krystalle schmolzen bei 80—82°, bei 75—77° beginnen sie zu erweichen. Eine nähere Untersuchung soll nach Beschaffung größerer Mengen Material erfolgen. Es sei hier schon bemerkt, daß auch aus dem Weizenkeimenphosphatid¹⁾ eine Substanz von ganz gleicher Krystallform und genau demselben Schmelzpunkt isoliert wurde. Ob beide Substanzen identisch sind, können wir jetzt noch nicht sagen. Beim Umkrystallisieren der soeben erwähnten Substanz aus Alkohol verblieb ein in Alkohol schwer löslicher Rückstand, welcher aus einem Gemisch von Chloroform und Toluol umkrystallisiert wurde.

Die Fraktionen 23 und 24 scheiden auch Krystalle aus, welche vielleicht mit Nr. 10 identisch sind.

Die beigefügte Tabelle auf Seite 511 gibt eine Übersicht über die Zerlegung unseres Ausgangsmaterials in die einzelnen Bestandteile.

¹⁾ Siehe die nächste Arbeit von K. Smolenski.

Ausgangsmaterial. Rohphosphatidgemisch aus Weizenmehl durch Alkoholextraktion.

Mit viel Äther in der Wärme behandelt.

1. In Äther leicht löslicher Anteil.

Die ätherische Lösung wird konzentriert.

3. Beim Erkalten krystallinische Ausscheidung (Phytosterin).

4. Mutterlauge von 3. Weiterkonzentriert.

5. Krystallinische Ausscheidung. 6. Filtrat von 5.

Wird durch Destillation vom Äther befreit. Rückstand mit Aceton gekocht.

7. Acetonlöslicher Anteil. 8. Acetonunlöslicher.

9. Krystallinische Ausscheidung beim Erkalten. 10. Filtrat von 9.

Mit absolutem Alkohol in der Kälte digeriert, liefert zwei Anteile:

15. Alkohollöslicher Anteil.

Die filtrierte alkoholische Lösung wird in mehrere Liter destilliertes Wasser gegossen, mit verdünnter Schwefelsäure ausgeflokt. Es resultiert eine weiße, gallertige Fällung und eine schwach gelb gefärbte Lösung:

17. Fällung wird in Äther gelöst.

19. Krystallinische Ausscheidung beim Stehen.

18. Lösg. mit Baryumhydroxyd neutral, Filtrat eingedunstet. Kohlenhydrate usw.

16. Alkoholunlöslicher Anteil.

Wird mit Wasser in «Lösung» gebracht, mit verdünnt. Schwefelsäure ausgeflokt.

25. Fällung in Äther und Alkohol gelöst. 26. Wässrige Lösung.

27. In Äther-Alkohol-Gemisch löslich. Anteil. 28. In Äther-Alkohol unlöslicher Anteil.

Äther addestilliert gibt:

29. Krystallinische Ausscheidung. 30. Filtrat von 29.

Ätherische Lösung wird eingedunstet und Rückstand mit Aceton gekocht gibt 21. Acetonunlöslichen Anteil. 22. Acetonlöslichen Anteil.

Wird mit Alkohol gekocht

31. Löslicher Anteil. 32. Unlöslicher Anteil.

Dieser wird mit reinem Methylacetat digeriert.

23. Methylacetat-unlöslicher Anteil. 24. Methylacetat-löslicher Anteil.

Spaltung des Phosphatidpräparates.

45 g Substanz wurden im Wasserbade 6 Stunden mit 900 ccm 6%iger Schwefelsäure am Rückflußkühler erwärmt, wobei durch öfteres Umschütteln dafür gesorgt wurde, daß die Masse sich in der Substanz wieder gleichmäßig verteilte. Nach dem Erkalten der Flüssigkeit wurde die schwach gelbgefärbte Lösung von dem fettartigen stark gefärbten Rückstand getrennt, die Lösung mit Baryumhydroxyd nahezu neutralisiert, die vom Baryumsulfat getrennte Flüssigkeit konzentriert und der Rest der noch vorhandenen Schwefelsäure mit Baryumchlorid entfernt, die Lösung bis zur Sirupkonsistenz eingedunstet, wobei sich an der Oberfläche eine kleine Menge fettiger Tropfen abschied, welche von der Flüssigkeit mechanisch und mit Hilfe von Äther getrennt wurden. Nachdem der Sirup längere Zeit über Natronkalk behufs Entfernung der Salzsäure aufbewahrt worden war, wurde er in absoluten Alkohol eingegossen, wobei das Chlorhydrat in Lösung ging, die Kohlenhydrate bis auf eine kleine Menge aber ausgefällt wurden. Die alkoholische Lösung wurde wieder zum Sirup eingedunstet und letzterer abermals mit absolutem Alkohol ausgefällt, die von der nicht sehr bedeutenden Fällung getrennte alkoholische Lösung wurde mit einer alkoholischen Lösung von 10 g Platinchlorid ausgefällt, das ausgeschiedene Chlorplatinat wurde abgesogen und durch wiederholtes Umkrystallisieren gereinigt. Wir erhielten auf diese Weise 4 g Platindoppelsalz. Unter der Annahme, daß dieses Salz reines Cholinplatinchlorid ist, berechnet sich ein Stickstoffgehalt von 0,182 g N. Das für unsere Versuche verwendete Phosphatid enthielt 1,5% N, demnach enthalten 45 g 0,675 g Stickstoff. Also erhielten wir auf die beschriebene Weise aus der wässerigen Zersetzungsflüssigkeit nur 27% des gesamten Stickstoffs als Cholin. Es ist allerdings zu bemerken, daß der Rückstand trotz sorgfältigen Auswaschens immer noch stickstoffhaltig war, es ist aber ausgeschlossen, daß $\frac{2}{3}$ des entstandenen Cholins in dem Rückstand verblieben sind. Weitere Versuche sollen entscheiden, ob trotz des andauernden Kochens mit

Schwefelsäure ein Teil des Phosphatides der Zersetzung entgangen ist, oder ob der Rückstand eigenartige Verbindungen enthält.

Nach den Untersuchungen von Hugh Mac Lean¹⁾ hat man beim Ausfällen von Cholin in Form des Platindoppelsalzes mit einem Verlust von 9—10% zu rechnen, dieser Verlust wird durch die Anwesenheit von fremden Beimengungen noch um mehrere Prozente erhöht. Wir haben daher das vom Cholinplatinchlorid getrennte Filtrat noch weiter in folgender Weise verarbeitet. Es wurde mit Hilfe von Schwefelwasserstoff vom Platin befreit, das Filtrat vom Platinsulfid zum Sirup eingedunstet und nachdem die Salzsäure bei längerem Stehen über Natronkalk entfernt worden war, wurde der Sirup in absolutem Alkohol gelöst und mit einer alkoholischen Sublimatlösung ausgefällt, aus der Flüssigkeit hatten sich selbst nach 2wöchigem Stehen keine Krystalle ausgeschieden. Die Flüssigkeit wurde nun vom Alkohol befreit, das Quecksilber mit Schwefelwasserstoff entfernt, die vom Quecksilbersulfid getrennte Lösung wurde eingeeengt und in schwefelsaurer Lösung mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde in bekannter Weise mit Baryumhydroxyd zersetzt und daraus eine Basenlösung gewonnen, welche mit Salzsäure neutralisiert wurde. Die verdünnte Lösung gab folgende Reaktionen:

Phosphorwolframsäure	—	fein-krystallinische Fällung
Phosphormolybdänsäure	—	» » »
Quecksilberkaliumjodid	—	gelber krystallinischer Niederschlag
Wismutkaliumjodid	—	brauner » »
Nesslers Reagenz	—	gelbe Fällung
Goldchlorid	—	hellgelber krystallinischer Niederschlag
Platinchlorid	—	gelber » »

Pikrinsäure, Gerbsäure, Quecksilberchlorid und Cadmiumkaliumjodid erzeugen keine Fällungen.

Die Lösung des Chlorids wurde nun etwas konzentriert und mit einer wässrigen Lösung von Goldchlorid ausgefällt, wobei sofort ein in Nadeln krystallisierender hellgelber Niederschlag auftrat, beim Stehen der Mischung über Schwefelsäure

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 367.

traten dann noch orangefarbige Blättchen und Prismen auf. Die Krystalle wurden von der Lösung getrennt und auf einer Tonplatte mit Alkohol ausgewaschen, sodann wurden die Krystalle so gut als möglich nach ihrem Aussehen sortiert. Die feinen, zitronengelben schmolzen unter Zersetzung bei $246-247^{\circ}$. Die gleichmäßig orangegefärbten großen Krystalle schmolzen ohne Zersetzung scharf bei $183-184^{\circ}$, außerdem wurde noch eine dritte Sorte orangegelber Krystalle herausgelesen, welche bei $177-178^{\circ}$ ohne Zersetzung schmolzen. Leider war die Menge dieser Krystalle nicht ausreichend, um irgend eine analytische Bestimmung damit auszuführen. Auffallend aber ist es, daß die dunkler gefärbten, großen Krystalle scharf, ohne Zersetzung bei $183-184^{\circ}$ schmolzen. Das Golddoppelsalz des Trigonellins schmilzt bei 185° ohne Zersetzung. Es ist somit nicht ausgeschlossen, daß das Phosphatid aus Weizenmehl bei der Spaltung mit Säuren Trigonellin liefert.

Es erübrigt noch zu bemerken, daß die 4 g des gewonnenen Platindoppelsalzes nicht ganz reines Cholinplatinchlorid waren. Der Plattingehalt der einmal aus Wasser umkrystallisierten und bei 105° getrockneten Krystalle betrug $35,6\%$ anstatt $31,64\%$. Erst durch eine langwierige Umkrystallisation aus kochendem 45% igem Alkohol erhielten wir ein Platindoppelsalz mit einem Gehalt von $30,97\%$. Das daraus dargestellte Golddoppelsalz besaß einen Goldgehalt von $44,74\%$. Eine andere Fraktion besaß einen Plattingehalt von $32,47\%$. Das daraus dargestellte Golddoppelsalz hatte einen Goldgehalt von $44,54\%$.¹⁾ Daneben wurde eine nicht unbeträchtliche Menge von Ammon-

1) 0,3518 g Trockensubstanz gaben 0,1252 g Pt = $35,6\%$ Pt
 0,1710 » » » 0,0758 » » = $44,32\%$ »
 Für Ammonplatinchlorid berechnet: $43,91\%$ »
 0,5420 » Trockensubstanz gaben 0,1760 g Pt = $32,47\%$ »
 Berechnet für Cholinplatinchlorid: $31,64\%$ »
 0,4504 » Cholingolddoppelsalz gaben 0,2006 g Au = $44,54\%$ Au
 Berechnet: $44,5\%$ »
 0,4844 » Trockensubstanz gaben 0,1500 g Pt = $30,97\%$ Pt
 Berechnet für Cholinplatinchlorid: $31,54\%$ »
 0,3624 » Golddoppelsalz gaben 0,1353 g Au = $44,79\%$ Au.

platinchlorid gewonnen.¹⁾ Das aus dem reinen Platindoppelsalz dargestellte Chlorid gab alle Reaktionen des Cholins, außerdem aber gab Pikrinsäure eine Fällung mikroskopischer Krystalle von eigentümlichem Aussehen. Dieses Verhalten zeigt das Cholinchlorhydrat nicht, so daß also trotz der Übereinstimmung im Platingehalt das Platindoppelsalz noch nicht ganz reines Cholinplatinchlorid sein konnte.

Da die Menge des isolierten Platindoppelsalzes weit hinter derjenigen zurückblieb, die sich aus dem Stickstoffgehalt des zersetzten Phosphatides berechnen läßt, so mußte man annehmen, daß das Filtrat, welches beim Ausfällen des kohlenhydrathaltigen Rückstandes mit Phosphorwolframsäure resultierte, noch Stickstoffverbindungen einschloß. Diese Filtrate wurden mit Hilfe von Baryumhydroxyd von der Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure befreit, die von der starken Fällung durch Filtration getrennte Flüssigkeit von der kleinen Menge gelösten Baryts durch Kohlensäure befreit und das nun erhaltene Filtrat zum Sirup eingedunstet. Dieser Sirup wurde wiederholt mit 95%igem Alkohol extrahiert, die alkoholischen Extrakte eingedunstet. Es hinterblieb nun ein brauner Sirup, welcher neben Kohlenhydraten noch beträchtliche Mengen Stickstoffverbindungen einschloß. Die Prüfung dieses Sirups mit den bekannten Alkaloidreagenzien gab ein völlig negatives Resultat. Es ist uns bis jetzt noch nicht gelungen, aus diesem Sirup eine wohl definierte Verbindung darzustellen, doch ist durch diese Versucheargetan, wie man eventuell die bei der Spaltung der Cerealienphosphatide auftretenden Stickstoffverbindungen trennen kann. Wir hoffen bei Verarbeitung größerer Mengen Ausgangsmaterial dieses Ziel zu erreichen.

Trotzdem durch die im vorigen beschriebenen Versuche und durch die Untersuchungen von E. Winterstein und O. Hiestand²⁾

¹⁾ A. Erlandsen, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 108, hat bei Untersuchung eines aus dem Myocardium dargestellten Phosphatids des Cuorins ein Platindoppelsalz mit 37,26% Pt isoliert. Dieses Platindoppelsalz krystallisiert in Oktaedern; ob es Ammonplatinchlorid einschließt, hat anscheinend der Verfasser nicht geprüft.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 288.

dargetan worden ist, daß neben basischen Stickstoffverbindungen auch andere Stickstoffverbindungen bestanden, haben wir doch noch einen weiteren Versuch zur Unterstützung dieser Beobachtung ausgeführt, wobei wir die Basen direkt mit Phosphorwolframsäure ausfällten. Das zu diesem Zweck verwendete Präparat wurde wie folgt verarbeitet. 650 g feuchtes, frisch aus Weizenmehl dargestelltes Phosphatid wurden 2 mal mit je 2 l kochendem Aceton ausgezogen, wobei jedesmal ca. 2 Stunden gekocht wurde und das erhaltene Extrakt vom Ungelösten abgegossen wurde. Der dabei verbliebene in Aceton unlösliche Anteil des Phosphatids wurde nun in gleicher Weise 2 mal mit 95%igem Alkohol behandelt. Die alkoholischen Extrakte wurden heiß abfiltriert; beim Erkalten der Lösung schieden sich Krystalle aus. Es wurde nun die alkoholische Lösung von den Krystallen abgetrennt, der Alkohol abdestilliert und die konzentrierte Lösung in Wasser gegossen und auf Zusatz von Schwefelsäure zur Ausscheidung gebracht, die Ausscheidung wurde in Äther gelöst, die wässrige Schicht abgetrennt und die ätherische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet. Das so erhaltene Phosphatid ist nach der Tabelle noch kein ganz einheitliches Produkt, aber behufs Feststellung der Spaltungsprodukte mußten wir uns mit dieser einfacheren Trennung begnügen, da das weitere Fraktionieren viel von dem Material aufzehrt.

Das erhaltene Phosphatid enthält 1,5% Phosphor.

1,6518 g Substanz gaben 0,0892 g $Mg_2P_2O_7$.

Der Stickstoffgehalt betrug 1,04%.

0,6702 g Trockensubstanz gaben nach Kjeldahl 0,0070 g Stickstoff.

Das Präparat enthält 16,2% Kohlenhydrate, 0,8546 g mit 6%iger Schwefelsäure erwärmt. 50 ccm von 150 ccm gaben 89,9 und 90,2 mg Cu.

Für die Spaltung wurden 150 g Trockensubstanz verwendet. Das Phosphatid wurde in 1,5 l Wasser emulgiert, sodann 100 g konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt und nun 6 Stunden im Wasserbade erwärmt. Nach dem Erkalten wurde die saure Lösung abgegossen und der fettartige Rückstand wurde noch 2 mal mit je 500 ccm 5%iger Schwefelsäure $\frac{1}{2}$ Stunde erwärmt. Die vereinigten sauren Filtrate wurden mit Hilfe von Baryumhydroxyd von der Schwefelsäure nahezu befreit, vom Baryumsulfat wurde abfiltriert, der Niederschlag sorgfältig

ausgewaschen und die Flüssigkeit bis auf 1 l konzentriert. Der Stickstoffgehalt, bezogen auf die angewendete Trockensubstanz, betrug 0,54⁰/₀.

10 ccm = 1,5 g Trockensubstanz brauchten 5,9 ccm ¹/₁₀-n-HCl.

Die Menge des in den Phosphorwolframsäureniederschlag eingehenden Stickstoffs betrug 0,3⁰/₀.

20 ccm = 3 g Trockensubstanz brauchten 6,4 ccm ¹/₁₀-n-HCl.

Das Filtrat davon enthielt 0,29⁰/₀ Stickstoff.

Es wurden 6,2 ccm ¹/₁₀-n-HCl verbraucht.

Die Summe der beiden letzten Zahlen 0,59 stimmt gut mit dem Gesamtstickstoff 0,54⁰/₀ N.

Diese Zahlen bestätigen somit die früheren Ergebnisse. Es wird nur ein Teil des in dem Phosphatid vorhandenen Stickstoffs als Basen abgespalten. Es ist ferner beachtenswert, daß trotz wiederholter Behandlung mit 5⁰/₀iger Schwefelsäure der Rückstand nach dem Kochen mit Schwefelsäure noch viel Stickstoff enthält, denn die Gesamtmenge der Lösung betrug 0,54⁰/₀ Stickstoff, bezogen auf das Ausgangsmaterial, während das letztere 1,04⁰/₀ Stickstoff enthielt.

Die übrig gebliebene Lösung wurde nun zum Sirup konzentriert und dieser weiter verarbeitet. Über die daraus gewonnenen Substanzen werden wir demnächst berichten.

Da die Phosphatide so außerordentlich veränderliche Substanzen sind, so könnte man vermuten, daß schon während der Darstellung aus dem Weizenmehl infolge der andauernden Behandlung mit Wasser und darauffolgenden Trocknens eine Veränderung bzw. eine Verbindung von kohlenhydratfreien Phosphatiden mit den in dem Weizenmehl vorhandenen Kohlenhydraten erfolge, so daß die von uns untersuchten Kohlenhydratphosphatide eigentlich als Kunstprodukte anzusehen seien. Obwohl E. Winterstein und O. Hiestand diesen Einwand für das aus Lupinussamen darstellbare Phosphatid beseitigt haben, so hielten wir es doch für ratsam, diesem Einwand in anderer Weise, als es die Genannten getan haben, entgegenzutreten.

Wir extrahierten 5 kg Weizenmehl sorgfältig mit Äther, behandelten den Rückstand mit Alkohol, dunsteten den Alkohol im Vakuum ab und reinigten das erhaltene Präparat durch Eingießen in Wasser, wie oben angegeben, dann wurde in Äther

1,2224 g Trockensubstanz mit 250 ccm ca. 6%iger Schwefelsäure zersetzt.
 50 ccm davon gaben 89 mg Cu = 18,2% d-Glukose berechnet.

Präparat 23.

0,5871 g Trockensubstanz gaben 0,0407 g $Mg_2P_2O_7$ = 1,57%.
 1,3998 > > verbrauchten 9,8 ccm $\frac{1}{10}$ -n-HCl = 0,98% N
 1,1812 > > > 8,7 > > = 1,03% >
 Mittel: 1% >
 1,3150 > > mit 200 ccm 6%iger Schwefelsäure zersetzt.
 Je 50 ccm davon gaben I. 108 mg Cu, II. 106 mg Cu = 16,6% d-Glukose.

Präparat 31.

0,6646 g Trockensubstanz gaben 0,0374 g $Mg_2P_2O_7$ = 1,57% P.
 0,7000 > > verbrauchten 18,5 ccm $\frac{1}{10}$ -n-HCl = 3,70% N.
 1,0770 > > mit 206 ccm ca. 6%iger Schwefelsäure zersetzt.
 50 ccm davon gaben I. 52 mg, II. 49 mg Cu = 9,6% d-Glukose (berechnet).

