

Untersuchungen über Eigelb-Lecithin.

Von

Hugh MacLean M. D., Carnegie Research Fellow.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität zu Berlin)
(Der Redaktion zugegangen am 10. März 1909.)

In einer Veröffentlichung,¹⁾ die vor kurzer Zeit erschien, konnte ich zeigen, daß bei barytalkoholischer Spaltung von Herzmuskellecithin 42% des Gesamtstickstoffs in Form von Cholinplatinchlorid isolierbar war. Zwecks näherer Untersuchung dieser Verhältnisse bei anderen Phosphatiden wandte ich mich zunächst der Untersuchung von Eierphosphatiden zu.

Darstellung der Phosphatide des Eigelbs.

Lecithin wurde, wie bereits früher mitgeteilt, nach Angaben von Stern und Thierfelder²⁾ aus Rohmaterial gewonnen und gereinigt. Mein Präparat stellte eine hellgelbe Masse dar, die sehr hygroskopisch war und mit Alkohol eine nach kurzem Stehen klare Lösung bildete. Bei fernerm Zusatz von Alkohol ließ sich indes eine Trübung beobachten.

Ich teile folgende Analysen mit:

Stickstoff (Kjeldahl).

0.6070 g verbrauchen	8,12 ccm n_{10} -H ₂ SO ₄	= 1,87%
0,7879 »	10,68 »	= 1,89%
0,7398 »	9,85 »	= 1,87%
	Mittel	= 1,876%

Phosphor (Neumann).

0.3301 g verbrauchen	23,13 ccm n_{2} -NaOH	= 3,9%
0,4340 »	30,65 »	= 4,0%
	Mittel	= 3,95%

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LVII, S. 296.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 379.

Elementare Analyse.

0,1326 g gaben 0,3120 g $\text{CO}_2 = 64,18\%$ C

und 0,1264 g $\text{H}_2\text{O} = 10,6\%$ H

N : P = 1,05 : 1.

Spaltung in alkoholischer Lösung.

Diese Spaltung wurde ausgeführt, wie seinerzeit beim Herzlecithin beschrieben. Ungefähr 1 g Substanz wurde mit 100 ccm einer gesättigten Lösung von Baryt in Alkohol gekocht. Der weiterhin gereinigte Alkoholextrakt der Spaltungsprodukte wurde mit Platinchlorid gefällt, nach einigem Stehen gewaschen und trocken gewogen.

3 Stunden gekocht.

- | | | | |
|----|-------------------------|------------------------------|---------|
| 1. | 0,9818 g Lecithin gaben | 0,2642 g Cholinplatinchlorid | = 65,3% |
| 2. | 1,0268 „ „ | 0,2766 „ „ | = 65,4% |

4 $\frac{1}{2}$ Stunden gekocht.

- | | | | |
|----|-------------------------|------------------------------|---------|
| 3. | 1,1402 g Lecithin gaben | 0,3118 g Cholinplatinchlorid | = 66,2% |
| 4. | 1,1227 „ „ | 0,3051 „ „ | = 66,0% |

6 Stunden gekocht.

- | | | | |
|----|-------------------------|------------------------------|---------|
| 5. | 0,8989 g Lecithin gaben | 0,2448 g Cholinplatinchlorid | = 66,0% |
| 6. | 0,7909 „ „ | 0,2133 „ „ | = 65,4% |

Nach vollständiger Spaltung mit Baryumhydroxyd wurde ein Rückstand erhalten, der sorgfältig gewaschen, auf Stickstoff geprüft wurde.

Das Ergebnis folgt:

			In Prozenten des gesamten Stickstoffs des eingeführten Lecithins
1.	Rückstand gab 0,8 ccm $\text{N}_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$	= 1,12 mg N	= 6,08
2.	„ „ 1,0 „ „	= 1,4 „ „	= 7,27
3.	„ „ 0,7 „ „	= 0,98 „ „	= 4,6
4.	„ „ 0,8 „ „	= 1,12 „ „	= 5,32
5.	„ „ 1,1 „ „	= 1,54 „ „	= 9,13
6.	„ „ 0,85 „ „	= 1,19 „ „	= 8,02

Aus diesen Zahlen ist zu entnehmen, daß aus dem Phosphatid des Eigelbs nur ungefähr 66% Stickstoff in Gestalt von Cholinstickstoff isolierbar sind. Ich habe noch eine Reihe anderer Experimente unternommen, statt in alkoholischer, in wässriger Lösung mit Baryumhydroxyd gespalten. Die Ergebnisse

weichen von den in alkoholischer Lösung erhaltenen in keiner Weise ab. Auch hier erhält der Rückstand Stickstoff, wie für die alkoholische Spaltung angegeben.

3 Stunden gekocht.

1. 0.8403 g Lecithin gaben 0.2246 g Cholinplatinchlorid = 64.8%

4 Stunden gekocht.

2. 1.1411 g Lecithin gaben 0.3036 g Cholinplatinchlorid = 64.6%

3. 0.7821 g Lecithin gaben 0.2103 g Cholinplatinchlorid = 65.2%

5 Stunden gekocht.

4. 0.9293 g Lecithin gaben 0.2471 g Cholinplatinchlorid = 64.5%

Spaltung in saurer Lösung.

Im Gegensatz zu den weitverbreiteten Angaben in den Lehrbüchern, daß Lecithin mit verdünnter saurer Lösung nur langsam einer Spaltung anheimfällt, möchte ich betonen, daß für die von mir untersuchten Präparate davon nicht die Rede sein kann. Im Gegenteil habe ich stets beobachtet, daß die Spaltung schnell vor sich geht und daß ich dieser Methodik zur Isolierung der stickstoffhaltigen Anteile des Phosphatidmoleküls unbedingt den Vorzug geben mußte. Mein Befund stimmt in dieser Hinsicht überein mit einigen Versuchen von Feigl und Rollet, welche demnächst veröffentlicht werden. Zunächst benutzte ich Schwefelsäure, jedoch scheint mir mit Hinblick auf die umständlichen dadurch notwendigen Manipulationen dieses Verfahren wenig geeignet. Ich empfehle die Anwendung von wässriger Salzsäure, mit der die Spaltung leicht und schnell ohne fernere Schwierigkeiten vor sich geht. Besonders günstig gestaltet sich in der so erhaltenen Lösung die Fällung des Cholins, zu deren Vornahme die übrigen Spaltprodukte leicht und schnell entfernt werden können, nachdem man vorher das unlösliche Fettsäuregemenge abfiltriert hat. Der Überschuß an Salzsäure schadet nichts, erweist sich vielmehr für die Fällung als günstig. Die Methodik dieser Versuche beschreibe ich im einzelnen wie folgt:

Etwa 1 g Substanz wird mit verdünnter Salzsäure gekocht. HCl (spez. Gew. 1,19) 10 ccm + 90 ccm H₂O. Zeit 2—5 Stunden, je nach Menge und Eigenschaften des Materials.

Zur befriedigenden Abscheidung der Fettsäuren bleibt die Lösung in der Kälte einige Zeit stehen, wird filtriert, der Filterrückstand in das Zersetzungsgefäß zurückgeführt, darin gründlich mit etwa 100 ccm Wasser 10—15 Minuten lang ausgekocht, um anhaftende wasserlösliche Teilchen mit in das Filtrat zu bringen. Dieses Verfahren wird dreimal wiederholt. Die gesamten Filtrate werden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht, der Rückstand direkt in absolutem Alkohol aufgenommen, filtriert, das Filtrat mit Platinchlorid gefällt und das Präzipitat, wie bisher üblich, weiter verarbeitet. Den Rückstand weiterhin mehrfach auszuwaschen, hat sich in einer Reihe fernerer Versuche als überflüssig erwiesen, da es selbst bei sehr oft wiederholtem Waschen nicht gelingt, ihn völlig stickstofffrei zu machen.

1 1/2 Stunden gekocht.

1. 0.7601 g Lecithin gaben 0.2012 g Cholinplatinchlorid = 64.2%

3 Stunden gekocht.

2. 0.8274 g Lecithin gaben 0.2222 g Cholinplatinchlorid = 65.1%

3. 0.9837 g Lecithin gaben 0.2620 g Cholinplatinchlorid = 64.6%

5 Stunden gekocht.

4. 0.9124 g Lecithin gaben 0.2425 g Cholinplatinchlorid = 64.5%

Auf diese Weise läßt sich zeigen, daß die allgemeinen analytischen Angaben über das Eierlecithin auch für das Herzlecithin gelten. Eine bestimmte Differenz liegt nur in dem Gehalt an Cholin. Zum Vergleich habe ich auch eine Bestimmung an käuflichem Handelslecithin ausgeführt. Ein Präparat mit 1,75% N ergab einen Cholingehalt von ungefähr 80% des gesamten Stickstoffs.

Zum Vergleich weise ich hin auf die an verschiedenem Lecithin erhaltenen Cholinzahlen

Herzlecithin = 42%

Eierlecithin = 66%

Handelslecithin = 80%

Betrachtet man nun diese Verhältnisse, so gelangt man zu der Ansicht, daß diese Phosphatide bei annähernd gleicher oder doch sehr ähnlicher Elementarzusammensetzung in der Natur ihrer stickstoffhaltigen Spaltprodukte wesentlich differieren. Daher

müssen wir auch in bezug auf die basischen Bestandteile der Phosphatidmoleküle die bisher in Gebrauch befindliche allgemeine Lecithinformel als unzureichend ansehen.

Versuche über Lecithincadmiumchlorid.

Verschiedene Anteile des Herzlecithins wurden mit Cadmiumchlorid gefällt in kalter alkoholischer Lösung, die Präzipitate gewaschen, getrocknet und analysiert. Ich erhielt folgende Phosphorstickstoffzahlen:

Stickstoff.

0.3951 g Substanz verbrauchen	3.99 ccm $\frac{n}{10}$ -H ₂ SO ₄	= 1.414%
0.4143 » » »	4.19 » » »	= 1.416%
	Mittel	= 1.415%

Phosphor.

0.4069 g Substanz verbrauchen	22.70 ccm $\frac{n}{2}$ -NaOH	= 3.09%
0.5587 » » »	31.25 » » »	= 3.10%
	Mittel	= 3.095%

N : P = 1 : 1.

Dieses komplexe Produkt wurde nun in Wasser gelöst mit Baryumhydroxyd gespalten. Weiterhin die Analyse der Basen wie beim Lecithin ausgeführt. Hierbei ergab sich, daß die Berechnung einen höheren Stickstoffgehalt zeigte mit Bezug auf Cholin, als es im gewöhnlichen Lecithin der Fall ist. So muß ein Teil Stickstoff bei der Fällung in die Mutterlaugen übergegangen sein, deren nähere Untersuchung indessen noch aussteht.

1. 0.6348 g Substanz gaben 0,1470 g Cholinplatinchlorid = 74.5%
2. 0.7375 » » » 0,1777 » » » = 75%

Das alkoholische Filtrat von der Fällung mit Cadmiumchlorid wurde völlig eingedampft, der Rückstand mit Wasser von einem Überschuß an Fällungsmittel befreit. Dieser wässrige Auszug erwies sich in allen Fällen als stickstoffhaltig. Bei fernerer, den übrigen Versuchen entsprechender Behandlung mit verdünnter Salzsäure ließ sich indes Cholin nicht ausfällen. Auf diese Weise konnte ich also zeigen, daß bei der Fällung des Lecithins als Cadmiumchloriddoppelverbindung Stickstoff abgestoßen wird, der sich nachher in der wässrigen Lösung vorfindet und über den ich somit bestimmt aussagen kann, daß er weder dem Cholin noch auch Ammoniak zugehört. Ferner habe

ich immer wieder gefunden, daß auch ein Teil Lecithin sich in den Filtraten vorfindet, daß also die Fällung selbst bei großem Überschuß an Cadmiumchlorid nie vollständig ist. Zur Beurteilung dieser Verhältnisse möchte ich folgende Betrachtung anstellen:

Es ergeben sich zwei Möglichkeiten:

1. Der Gesamtstickstoff des Lecithins ist anzusprechen als Cholinstickstoff und das Cholinmolekül unterliegt während der Spaltung einer teilweisen Zersetzung. Somit müßte dann eben dieser Anteil in eine andere Form übertreten.

2. Der Gesamtstickstoff des Lecithins verteilt sich auf Cholin und andere bisher unbekannte Verbindungen. Für die Anschauung einer teilweisen Zerstörung des Cholins lassen sich experimentelle Gründe nicht gewinnen. Davon habe ich mich in einer Reihe von Versuchen an reinen Cholinlösungen und ebenso an einem reinen durch analysierten Phosphatid überzeugt, indem ich die Spaltung nach Zeit und Konzentration variierte. Von einem Lecithin konnte ich bei der üblichen Arbeitsmethode 63% Cholin isolieren und dieses Ergebnis wurde selbst dann innerhalb der Fehlergrenzen wieder beobachtet, wenn ich die Kochdauer in Barytlösung auf 18 Stunden erhöhte. Ferner ist es gleichgültig, ob ich in saurer oder alkalischer, in wässriger, wässrig-alkoholischer oder alkoholischer Lösung arbeitete. Die erhaltenen Resultate haben in keinem Falle die Fehlergrenzen überschritten, was mit der Annahme eines partiellen Zerfalls von Cholin nicht vereinbar ist. Einen fernerer Einwand glaube ich noch entkräften zu müssen. Es wäre möglich, daß während der Spaltung die einzelnen Produkte untereinander in irgend einen komplizierten Reaktionsverlauf treten. Um hierüber Klarheit zu schaffen, teile ich noch folgenden Versuch mit, aus dem deutlich genug hervorgeht, daß auch diese Möglichkeit nicht in Betracht kommt. Es wurde eine reine Cholinlösung hergestellt und in zwei genau gleiche Teile geteilt. Der eine Teil (A) wurde als Kontrollversuch direkt gefällt und gab 0.2200 cem Cholinplatinchlorid.

Der zweite Teil (B) wurde mit folgenden Komponenten, die den Spaltungsprodukten des Lecithins rechnerisch völlig

entsprechen, in der üblichen Versuchsanordnung einer Analyse unterworfen. Als Komponenten dienten mir in Gestalt chemisch reiner Präparate die folgenden:

Glycerophosphorsäure	1 ccm
Glycerol	1 „
Phosphorsäure (Anhyd.)	0,5 g
Stearinsäure	0,5 „
Ölsäure	0,5 ccm

Diese Mischung wurde in barytalkalischer Lösung 4 Stunden lang gekocht und wie gewöhnlich aufgearbeitet. Dabei wurde gefunden: 0,2110 ccm Cholinplatinchlorid = 95,5%. Es ist ersichtlich, daß diese Differenz für die analytische Beurteilung keine Rolle spielt und sich zwanglos aus den technischen Schwierigkeiten des Auswachsens erklären läßt. Aus all diesen Tatsachen geht deutlich hervor, daß der Cholingehalt verschiedener Phosphatide (er zeigt, wie oben mitgeteilt, sehr namhafte Schwankungen) mit Notwendigkeit zu der Annahme führt, daß diesem verschiedene Konstitutionsformeln zuzuschreiben sind. Ich möchte ferner nicht unterlassen, mitzuteilen, daß meine Resultate eine erfreuliche Übereinstimmung zeigen mit den demnächst zu publizierenden Versuchen, von Feigl und Rollet, die auf Grund ganz anderer Voraussetzungen an der Hand der Jodzahlen in nativem Lecithin und dessen quantitativ gewonnenen Fettsäurekomponenten zu ähnlichen bemerkenswerten Ergebnissen kamen.