

# Über die zur Darstellung von Cholin, Betain und Trigonellin aus Pflanzen verwendbaren Methoden und über die quantitative Bestimmung dieser Basen.

Von  
E. Schulze.

(Aus dem agritektur-chemischen Laboratorium des Eidgen. Polytechnikums in Zürich.)  
(Der Redaktion zugegangen am 20. April 1909.)

Bekanntlich findet sich das Cholin in den Pflanzen in sehr großer Verbreitung vor; ich habe es z. B. in allen darauf untersuchten Pflanzensamen gefunden. Häufig wird das Cholin begleitet von Betain oder von Trigonellin. Es ist daher von Wichtigkeit, gute Methoden zur Abscheidung dieser Basen aus den Pflanzenextrakten zu besitzen. Lassen sich diese Methoden in solcher Weise ausführen, daß sie auch Aufschluß über die Quantität geben, in der jene Basen in den Pflanzen enthalten sind, so wird selbstverständlich ihr Wert dadurch noch erhöht.

Das von mir zur Abscheidung der genannten Stickstoffverbindungen aus den Pflanzenextrakten verwendete Verfahren, das ich in früher publizierten Abhandlungen<sup>1)</sup> beschrieben habe, beruht darauf, daß diese Stoffe durch Phosphorwolframsäure gefällt werden, und daß ihre salzsauren Salze mit Mercurichlorid in Wasser und in Weingeist schwer lösliche, gut krystallisierende Doppelverbindungen geben; um sie voneinander zu trennen, benutzte ich vorzugsweise die ungleiche Löslichkeit ihrer Chloride in kaltem absolutem Alkohol. Die Frage, inwieweit dieses Verfahren zu quantitativen Bestimmungen sich verwenden läßt, habe ich in jenen Abhandlungen offen gelassen und mich darauf

<sup>1)</sup> Landwirtsch. Versuchsstationen, Bd. XLVI, S. 23 u. Bd. LIX, S. 344.

beschränkt, Zahlen für die aus einigen Objekten erhaltene Ausbeute an Cholin und an Betain mitzuteilen.

Vor einigen Jahren hat Staněk<sup>1)</sup> ein Verfahren zur Darstellung von Cholin und Betain aus Pflanzenextrakten beschrieben, das auf der Fällbarkeit dieser Basen durch Kaliumtrijodid beruht und nach Angabe des genannten Autors auch zu Quantitätsbestimmungen verwendbar ist. In einer der zitierten Abhandlungen bespricht Staněk das von mir beschriebene Verfahren und fährt dann fort: «Ich habe nun versucht, eine geeignetere Methode auf Grund der Fällung der Basen durch Kaliumperjodid auszuarbeiten.» Wenn Staněk durch diese Worte das von mir beschriebene Verfahren für wenig geeignet, das seinige aber für besser erklären will, so muß ich dagegen auf das bestimmteste Einsprache erheben. Das Verfahren Staněks ist nicht nur nach den von diesem Autor selbst gemachten Angaben, sondern auch nach den Resultaten, die A. Kiesel<sup>2)</sup> bei Anwendung desselben in meinem Laboratorium erhielt, mit Mängeln verschiedener Art behaftet. Ich werde weiter unten darauf zurückkommen; zunächst will ich noch einige Worte über das von mir angewendete Verfahren sagen und auch die Frage erörtern, ob dasselbe sich auch zur quantitativen Bestimmung des Gehalts der Pflanzen an Cholin, Betain und Trigonellin eignet. Zuvor aber sei noch bemerkt, daß schon von L. Brieger<sup>3)</sup> die Fällbarkeit des Cholins und des Betains durch Mercurichlorid in alkoholischer Lösung zur Isolierung dieser Basen verwendet worden ist.

Zur Darstellung von Cholin, Betain und Trigonellin aus Samen und Keimpflanzen verwendete ich anfangs weingeistige Extrakte aus diesen Materialien; später zog ich es vor, wässrige Extrakte für diesen Zweck zu benutzen. Denn man ist nicht sicher, daß jene Basen durch Weingeist aus den Untersuchungsobjekten vollständig extrahiert werden; auch kann es

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 280; Bd. XLVII, S. 83 und Bd. XLVIII, S. 334.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 215.

<sup>3)</sup> L. Brieger, Die Ptomaine, Bd. I, II. u. III, Berlin bei Hirschwald, 1885—1886.

nicht für unmöglich erklärt werden, daß bei Verarbeitung weingeistiger Extrakte die darin enthaltenen Phosphatide unter Abspaltung von Cholin partiell zersetzt werden, während wässrige Pflanzenextrakte, so viel bis jetzt bekannt ist, keine Phosphatide enthalten.<sup>1)</sup> Die Extrakte wurden zunächst stets von den durch Bleiessig fällbaren Bestandteilen befreit, dann in zweierlei Weise verarbeitet. Entweder wurde die zuvor mittels Schwefelwasserstoff vom Blei befreite Flüssigkeit eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit kochendem Weingeist behandelt, die vom Rückstande getrennte weingeistige Lösung mit einer alkoholischen Mercurichloridsolution versetzt — oder man fällte die Basen aus dem Extrakt mittels Phosphorwolframsäure, zerlegte den Niederschlag mittels Kalk oder Baryt, dunstete die dabei erhaltene Basenlösung unter Zusatz von Salzsäure ein, behandelte den Verdampfungsrückstand mit heißem Weingeist und versetzte die Lösung mit Mercurichlorid.

Nachdem nachgewiesen worden war, daß in den Samen und Keimpflanzen Arginin in großer Verbreitung vorkommt und häufig von Lysin und Histidin sowie von Alloxurbasen begleitet wird, suchten wir meistens neben den oben genannten auch diese Basen zu isolieren. Aus der bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlages erhaltenen mit Salpetersäure neutralisierten Lösung wurden durch Silbernitrat zunächst die Alloxurbasen, dann durch Silbernitrat und Barytwasser in bekannter Weise das Histidin und das Arginin gefällt; die im Filtrat vom Argininsilberniederschlage noch enthaltenen Basen führten wir wieder in Phosphorwolframsäureverbindungen über, zerlegten den Niederschlag wieder durch Baryt und dunsteten die dabei erhaltene Lösung, nach Entfernung des überschüssigen Baryts, unter Zusatz von Salzsäure<sup>2)</sup> zur Trockene ein. Die in dieser Weise erhaltenen Chloride der Basen wurden dann mit Weingeist behandelt, die Lösung mit Mercurichlorid versetzt.

In jedem Falle wurden also das Cholin, das Betain und

<sup>1)</sup> Jedenfalls nicht nach dem Versetzen mit Bleiessig. Daß bei Darstellung der Extrakte Phosphatide durch Hydrolyse zersetzt werden, ist bis jetzt nicht nachgewiesen.

<sup>2)</sup> Es ist zweckmäßig, mit Salzsäure stark anzusäuern.

das Trigonellin in Quecksilberdoppelsalze übergeführt. Letztere wurden durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser unter Zusatz von etwas Mercurichlorid gereinigt, dann mittels Schwefelwasserstoff zerlegt. Die vom Schwefelquecksilber durch Filtration getrennte Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand im Vakuumexsikkator vollständig ausgetrocknet, dann zur Extraktion des salzsauren Cholins mit kaltem absolutem Alkohol behandelt. Da anzunehmen war, daß eine kleine Menge von Betainchlorid oder Trigonellinchlorid neben salzsaurem Cholin durch kalten, absoluten Alkohol gelöst wurde, so dunsteten wir die Cholinchloridlösung wieder ein und behandelten den Verdampfungsrückstand, nachdem er im Vakuumexsikkator getrocknet worden war, wieder mit kaltem, absolutem Alkohol. Die so erhaltene Lösung lieferte beim Eindunsten Cholinchlorid, das wir in der Regel in das gut krystallisierende Chlorplatinat überführten.<sup>1)</sup>

Den Beweis dafür, daß auf diesem Wege auch aus Objekten, die neben Cholin noch Betain oder Trigonellin enthielten, reine Cholinpräparate gewonnen werden konnten, liefern u. a. die Zahlen, die bei Bestimmung des Platingehaltes der Cholinplatinchloridpräparate erhalten wurden.<sup>2)</sup> Denn diese Zahlen liegen dem theoretischen Werte (31,6% Pt) sehr nahe oder übersteigen denselben sogar um einen geringen Betrag, was nicht möglich wäre, wenn die analysierten Präparate ein Platin-doppelsalz des Betains oder des Trigonellins als Beimengung enthalten hätten. Auch die für den Goldgehalt der Cholingoldchloridpräparate gefundenen Zahlen stimmten mit dem theoretischen Werte sehr gut überein, woraus ebenfalls zu schließen ist, daß wir auf dem angegebenen Wege das Cholin vom Betain und Trigonellin vollständig trennen konnten.

<sup>1)</sup> Zu diesem Zwecke wurde die alkoholische Lösung des Chlorids mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt. Verwendet man dabei Lösungen der beiden Substanzen in absolutem Alkohol, so ist die Fällung nach Gulewitsch (Diese Zeitschr., Bd. XXIV, S. 529) fast quantitativ vorausgesetzt, daß das Cholin rein war.

<sup>2)</sup> Ich verweise in betreff dieser Zahlen auf die Abhandlungen, die von mir in den Landwirtschaftl. Versuchsstationen, Bd. XLVI, S. 23 und in dieser Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 507 veröffentlicht worden sind.

Der bei Behandlung des trockenen Chloridgemenges mit kaltem absolutem Alkohol verbliebene Rückstand bestand in den von uns ausgeführten Versuchen entweder aus dem Chlorid des Betains oder aus demjenigen des Trigonellins; ein gleichzeitiges Vorkommen dieser beiden Basen in einer Pflanze haben wir bisher niemals beobachtet.<sup>1)</sup> Während es schwierig ist, bei der Trennung der Chloride mit Hilfe von kaltem absolutem Alkohol das salzsaure Cholin vollkommen frei von den Chloriden der anderen beiden Basen zu erhalten, ist es dagegen sehr leicht, das Betainchlorid und das Trigonellinchlorid vom Cholin vollständig zu befreien. Man hat zu diesem Zwecke nur nötig, die genannten Chloride aus Wasser oder aus verdünntem Alkohol umzukristallisieren; das Cholinchlorid geht infolge seiner Leichtlöslichkeit dann in die Mutterlauge über. Ohne Zweifel genügt aber auch in der Regel mehrmalige Behandlung des Chloridgemenges mit kaltem absolutem Alkohol zur vollständigen Entfernung des Cholinchlorids.

Es sei hier noch erwähnt, daß man die Fällung der Basen durch Mercurichlorid statt in alkoholischer auch in wässriger Lösung ausführen kann. Selbstverständlich empfiehlt es sich, in dem einen wie in dem andern Falle, die von den Quecksilberdoppelsalzen abfiltrierten Mutterlaugen einzuengen, um von den darin gelöst gebliebenen Salzen noch einen Teil zu gewinnen.

Daß zur Reindarstellung der im vorigen genannten Basen ihre Überführung in Quecksilberdoppelsalze von großem Nutzen ist, läßt sich leicht erkennen.<sup>2)</sup> Indem man diese Doppelsalze

<sup>1)</sup> Die von Staněk (Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 334) gemachte Angabe, daß in den Samen von *Trigonella* von Jahns Betain neben Trigonellin, in den Stachysknollen von A. von *Planta* Betain neben Stachydrin gefunden worden sei, muß ich für irrtümlich erklären. Bis jetzt hat man meines Wissens niemals Betain neben Trigonellin oder Stachydrin nachgewiesen.

<sup>2)</sup> Der Wert dieser Methode ist schon durch die von L. Brieger gemachten Beobachtungen bewiesen worden. In seinem Werke über Ptomaine, 2. Abteilung, S. 54, spricht sich der genannte Autor folgendermaßen aus: Bereits früher hatte ich das neutrale Bleiacetat und das Quecksilberchlorid als in vorzüglicher Weise zur Isolation der Ptomaine

durch Zusatz von Mercurichlorid zu einer weingeistigen Lösung der bezüglichen Chloride darstellt, entfernt man diejenigen Basen, deren Quecksilberdoppelsalze in Weingeist löslich sind.<sup>1)</sup> Durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser kann man ferner jene Doppelsalze sowohl von den in Wasser unlöslichen Quecksilberverbindungen, die ihnen zuweilen beigemischt sind, als auch von denjenigen Verbindungen befreien, die sich nicht in Weingeist, aber in Wasser leicht lösen. Sodann ist noch darauf aufmerksam zu machen, daß man jene Doppelsalze durch fraktionierte Krystallisation partiell von einander trennen kann, denn das Betainquecksilberchlorid ist in kaltem Wasser leichter löslich, als das Cholinquecksilberchlorid; wenn man ein Gemenge der beiden Doppelsalze wiederholt aus Wasser umkrystallisiert und dabei stets den in Wasser am schwersten löslichen Teil der Krystalle aufsammelt, so erhält man ein fast nur aus Cholinquecksilberchlorid bestehendes Produkt. Hin und wieder habe ich noch eine andere Reinigungsoperation in Anwendung gebracht; durch Schlemmen mit Hilfe der Mutterlauge wurde eine dem Anschein nach amorphe Quecksilberverbindung

geeignet erkannt. Besonders bewährte sich das in Alkohol gelöste Quecksilberchlorid. Es wurde deshalb die alkoholische Lösung, welche die Chlorhydrate der Ptomaine enthielt, mit überschüssigem alkoholischem Quecksilberchlorid versetzt und nun 24 Stunden lang stehen gelassen. Der Quecksilberniederschlag wurde alsdann mit recht viel heißem Wasser gekocht und vom Unlöslichen abfiltriert. Durch diese Manipulation glückte es, die in den Alkohol übergetretenen Peptone und Albuminate vollständig herauszuwerfen, da derartige Verbindungen selbst in kochendem Wasser absolut unlöslich sind, während alle Quecksilberdoppelverbindungen der organischen Ammoniake in kochendem Wasser löslich sind. Äußerst schwer löslich, selbst in heißem Wasser, ist allerdings das Quecksilberdoppelsalz des Cholins, eine Eigenschaft, die man leicht zur völligen Abscheidung des Cholins von den übrigen Basen benutzen kann. Beim Erkaltenlassen des die Quecksilberverbindungen enthaltenden Filtrats krystallisiert nämlich das Quecksilbercholin alsbald vollständig aus, während die übrigen Basen in Lösung bleiben. Diese Methode läßt sich auch, wie ich hier gleich bemerken will, zur Darstellung des Cholins aus Organen mit Vorteil an Stelle der usuellen kostspieligen Platinfällung verwerten.

<sup>1)</sup> Als solche Basen sind das Guanidin und das Phenyläthylamin zu nennen.

entfernt, die in einigen Fällen dem Cholinquecksilberchlorid in kleiner Quantität beigemischt war.

Daß es vorteilhaft ist, bei der Abscheidung von Cholin, Betain und Trigonellin aus Pflanzenextrakten die Phosphorwolframsäure durch das von Staněk verwendete Kaliumtrijodid zu ersetzen, muß ich in Abrede stellen. Ich stütze mich dabei auf verschiedene Tatsachen. Da die Pflanzenextrakte beim Einengen sich häufig dunkel färben und da sie mit Staněks Reagens einen fast schwarzen Niederschlag geben, so ist es nicht leicht, den Punkt, an welchem die Fällung der Basen vollständig ist, sicher zu erkennen (ein Überschuß des Reagens wirkt aber lösend auf den Niederschlag). Die meist ölige Beschaffenheit<sup>1)</sup> der Niederschläge bedingt beim Abfiltrieren und Auswaschen gewisse Schwierigkeiten.<sup>2)</sup>

Man würde sich über diese Übelstände eher hinwegsetzen, wenn man sicher wäre, daß in den durch Kaliumtrijodid in den Pflanzenextrakten hervorgebrachten Niederschlägen keine anderen Stickstoffverbindungen als Cholin, Betain und Trigonellin enthalten sind. Dies ist aber nicht der Fall. Die Zahl der durch das genannte Reagens fällbaren stickstoffhaltigen Pflanzenbestandteile ist nach Staněks eigenen Angaben recht beträchtlich; außer den von ihm aufgezählten Stoffen zeigen aber wahrscheinlich noch einige andere, deren Natur bis jetzt nicht bekannt ist, das gleiche Verhalten. Denn in den Samen und in den Keimpflanzen von Cucurbita Pepo, die von A. Kiesel, loc. cit., bei der Prüfung des Staněkschen Verfahrens als Versuchsobjekte benutzt wurden, finden sich, so weit dies bis jetzt bekannt ist, neben Cholin weder Betain und Trigonellin, noch

<sup>1)</sup> In einer Erwiderung auf Kiesel's Kritik sagt Staněk, (Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 354), daß es ihm bei Darstellung von Cholin und Betain aus Rübenmelasse gelungen sei, die ölige Beschaffenheit der Niederschläge durch Zusatz von Jod zu beseitigen; doch ist es fraglich, ob dies in allen Fällen möglich ist (einige von mir ausgeführte Versuche schienen nicht dafür zu sprechen).

<sup>2)</sup> Wobei noch in Betracht kommt, daß die Fällung durch reines Wasser allem Anschein nach langsam hydrolysiert, durch einen Überschuß des Reagens langsam gelöst wird; das Auswaschen kann also unter Umständen mit Verlusten verbunden sein.

echte Alkaloide vor; trotzdem aber lieferten die in den von Eiweiß befreiten Extrakten durch Kaliumtrijodid hervorgebrachten Niederschläge bei der Zerlegung nicht reines Cholin, sondern ein Gemenge dieser Base mit anderen Stoffen, deren Entfernung beträchtliche Mühe verursachte. Durch Kaliumtrijodid wird also, ebenso wie durch Phosphorwolframsäure, aus den Pflanzenextrakten in der Regel ein Stoffgemenge gefällt, das man zerlegen muß, um zur Reindarstellung von Cholin und anderen Basen zu gelangen. Dabei kann die Überführung dieser Basen in ihre Quecksilberdoppelsalze gute Dienste leisten. Mag man nun aber auf diesem oder auf einem anderen Wege jenes Ziel erreichen wollen, so ist es doch keinesfalls von Vorteil, als Fällungsmittel für das Basengemenge statt der von mir benutzten Phosphorwolframsäure das Kaliumtrijodid anzuwenden. Allerdings werden durch das zuerst genannte Reagens auch Arginin, Lysin und Histidin gefällt, während diese Basen durch Kaliumtrijodid nicht niedergeschlagen werden: die Trennung derselben vom Cholin und Betain bietet aber, wie aus den von mir gemachten Darlegungen zu ersehen ist, gar keine Schwierigkeiten dar. Auf die Frage, welchen Nutzen man von Staněks Verfahren für die Trennung des Cholins vom Betain und für die quantitative Bestimmung dieser Basen ziehen kann, werde ich weiter unten zurückkommen: ich werde dort auch noch das Verfahren, welches Jahns,<sup>1)</sup> unter Anwendung des Kaliumwismutjodids, zur Darstellung des Trigonellins und zur Trennung dieser Base von Cholin verwendet hat, kurz besprechen.

Was ich im vorigen über die zur Darstellung von Cholin, Betain und Trigonellin aus Pflanzenextrakten verwendbaren Methoden gesagt habe, gründet sich auf Erfahrungen, die von mir und meinen Mitarbeitern teils schon früher, teils erst in neuerer Zeit gemacht worden sind. Ich habe vor kurzem u. a. noch einmal die Basen untersucht, die in den als Abfall des Müllereiprozesses erhältlichen «Weizenkeimen»<sup>2)</sup> sich vorfinden.

<sup>1)</sup> Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. XVIII, S. 2521 u. Bd. XX, S. 2840, sowie Archiv der Pharmacie, 3. Reihe 25, S. 985.

<sup>2)</sup> Dieses Material besteht aus Embryonen, denen jedoch vielfach kleine Teilchen des Endosperms anhaften.

S. Frankfurt und ich<sup>1)</sup> haben aus diesem Material Cholin und Betain isoliert: später fand ich darin auch Arginin.<sup>2)</sup> In den jetzt untersuchten Keimen fanden sich neben diesen Basen noch einige andere in kleiner Menge vor. Da es bemerkenswert ist, daß auch unter diesen Umständen das im übrigen beschriebene Verfahren zur Darstellung von Cholin und Betain mittels Phosphorwolframsäure und Mercurichlorid nicht an Brauchbarkeit verlor, so will ich über die bei Untersuchung dieser Keime erhaltenen Resultate im folgenden einige nähere Angaben machen.

Zur Verwendung kam ein wässeriger Extrakt aus 9 bis 10 kg Weizenkeimen. Dieser Extrakt wurde, nachdem er von den durch Bleiessig fällbaren Substanzen befreit worden war, mit Schwefelsäure stark angesäuert und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Den Niederschlag zerlegten wir durch Verreiben mit Baryumhydroxyd und Wasser. Nachdem das dabei frei gewordene Ammoniak beseitigt worden war, wurden die unlöslichen Baryumverbindungen durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde mittels Kohlensäure vom Baryt befreit, dann mit Salpetersäure neutralisiert und hierauf stark eingeeengt. Auf Zusatz von Silbernitrat gab diese Flüssigkeit einen Niederschlag, welcher Alloxybasen enthielt (die bei Zerlegung dieses Niederschlags mit Schwefelwasserstoff unter Zusatz von Salzsäure erhaltene Flüssigkeit lieferte nach dem Einengen Krystalle, die aus den Chloriden solcher Basen bestanden). Aus dem Filtrat wurden nach bekanntem Verfahren durch Silbernitrat und Barytwasser Histidin und Arginin gefällt: Die Histidinfraktion des Niederschlags war an Quantität gering und wurde nicht weiter untersucht: die Argininfraktion lieferte, als sie nach bekanntem Verfahren verarbeitet wurde, Argininnitrat in Krystallen. Dieses Produkt wurde in Argininkupferniträt übergeführt. Letzteres krystallisierte in der charakteristischen Form und besaß nach dem Umkrystallisieren den richtigen Schmelzpunkt (112—114°). Die Mutterlauge vom Argininkupferniträt

<sup>1)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XXVI, S. 2151, sowie auch Landwirtsch. Versuchsstationen, Bd. XLVI, S. 23.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 467.

enthielt in kleiner Menge eine Base, die aus der zuvor durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreiten Flüssigkeit durch Natriumpikrat gefällt werden konnte. Das dabei erhaltene Pikrat besaß aber nicht den Schmelzpunkt des Guanidinpikrats.<sup>1)</sup>

Die im Filtrat vom Argininsilberniederschlage noch enthaltenen Basen wurden wieder mit Phosphorwolframsäure gefällt, die bei Zerlegung des Niederschlages erhaltene Basenlösung unter Zusatz von Salzsäure eingedunstet, der Verdampfungsrückstand zuerst mit kaltem, absolutem, dann mit heißem 95% igem Alkohol behandelt. Die dabei erhaltenen Lösungen versetzte ich mit einer alkoholischen Mercurichloridsolution. Die dadurch hervorgebrachten krystallinischen Niederschläge wurden nach Verlauf von einigen Tagen abfiltriert, sodann in heißem Wasser gelöst (wobei eine geringe Quantität eines unlöslichen Rückstandes blieb), die Lösungen zur Krystallisation gebracht. Der in Wasser am schwersten lösliche Teil der Krystalle bestand vorzugsweise aus Cholinquecksilberchlorid, während das Betain sich vorzugsweise in den leichter löslichen Krystallfraktionen vorfand. Die Krystalle wurden mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die vom Schwefelquecksilber abfiltrierten Lösungen zur Trockne verdunstet. Das im Vakuumexsikkator sorgfältig getrocknete Gemenge der Chloride behandelte ich sodann mit absolutem, durch Destillation unter Kalkzusatz entwässertem Alkohol. Die dabei erhaltene Lösung wurde eingedunstet, der Rückstand wieder völlig ausgetrocknet und sodann wieder mit absolutem Alkohol behandelt. Die dabei gewonnene Lösung versetzte ich mit einer alkoholischen Platinchloridsolution, wobei ein starker gelber Niederschlag entstand. Derselbe wurde, nachdem er abfiltriert und mit Alkohol ausgewaschen worden war, in heißem Wasser gelöst. Aus der Lösung schied sich während des Erkaltens ein in kaltem Wasser sehr wenig lösliches Chlorplatinat, welches nur 28,35% Platin enthielt, in kleiner Quantität aus. Die davon abfiltrierte Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten orangefarbene Tafeln, die im Aussehen mit Cholinplatinchlorid völlig übereinstimmten. Sie wurden zur

<sup>1)</sup> Bekanntlich schließt die Argininfraktion des in oben beschriebener Weise erhaltenen Niederschlages zuweilen Guanidin ein.

möglichst vollständigen Entfernung des anderen, schwer löslichen Chlorplatinats in kaltem Wasser gelöst, die Lösung wieder zur Krystallisation gebracht, diese Operation sodann noch einmal wiederholt. Daß auf diesem Wege ein reines Produkt gewonnen werden konnte, ergibt sich aus den bei der Platinbestimmung erhaltenen Zahlen, die hinter dem der Formel des Cholinplatinchlorids entsprechenden Werte (31,6% Pt) nur um einen sehr geringen Betrag zurückblieben. Den Beweis dafür liefern die folgenden Angaben:<sup>1)</sup>

0,2026 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0639 g = 31,54% Pt.

Bei Untersuchung einer zweiten Fraktion der Krystalle ergab sich folgendes Resultat:

0,2329 g Substanz gaben 0,0733 g = 31,47% Pt.

Einen etwas niedrigeren Platingehalt besaßen die Krystalle, die aus der von der ersten Krystallisation abgegossenen Mutterlauge erhalten wurden:

0,2241 g Substanz gaben 0,0700 g = 31,24 g Pt.

Es ist möglich, daß die letzteren Krystalle noch durch eine sehr kleine Menge des in Wasser schwerer löslichen Chlorplatinats verunreinigt waren. Dieses Chlorplatinat zeigte unter dem Mikroskop fast das Aussehen des Ammoniumplatinchlorids. Die Platinbestimmung gab folgendes Resultat:

0,1295 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0367 g = 28,35% Pt.

Demnach enthielt dieses Doppelsalz 3% Platin weniger, als das Cholinplatinchlorid. Das bei Zerlegung dieses Chlorplatinats erhaltene Chlorid krystallisierte in feinen zerfließlichen Nadeln, die in Wasser und in kaltem absolutem Alkohol löslich waren. Die wässrige Lösung gab Fällung mit Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Goldchlorid, Kaliumwismutjodid und Kaliumquecksilberjodid: der durch letzteres Reagens hervorgebrachte Niederschlag war löslich im Überschuß des Fällungsmittels. Schließlich wurde noch der Goldgehalt des Chloraurats bestimmt; dabei ergab sich folgendes Resultat:

<sup>1)</sup> Die bezüglichen Analysen wurden von meinem Assistenten Ch. Godet ausgeführt.

0,1025 g Substanz gaben 0,0421 g = 41,07% Au.

Der Goldgehalt war also um ca. 3 $\frac{1}{2}$ % niedriger, als derjenige des Cholingoldchlorids. Wie aus diesen Angaben hervorgeht, ist diese neben Cholin gefundene Base in ihrem Verhalten dem Cholin sehr ähnlich; doch ist aus den bei Analyse des Chlorplatinats und des Chloraurats erhaltenen Zahlen zu schließen, daß sie ein höheres Molekulargewicht besitzt. Für eine genauere Untersuchung dieser Base reichte die geringe Quantität, in der sie erhalten wurde, nicht aus.

Das Betain fand sich vorzugsweise in den in Wasser leichter löslichen Fraktionen der Quecksilberdoppelsalze vor. Nachdem das Betainchlorid durch Behandlung mit kaltem absolutem Alkohol vom Cholinchlorid befreit worden war, wurde es aus Wasser umkrystallisiert. Zur Identifizierung des Betains diente die Untersuchung des Chloraurats und des Chlorplatinats. Bei Analyse des ersteren Doppelsalzes ergab sich folgendes Resultat:

0,3575 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,1545 g Au = 43,22% Au.

Die Theorie verlangt für Betaingoldchlorid einen Gehalt von 43,18% Au.

Die Analyse des Chlorplatinats gab folgendes Resultat.

0,1522 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,04625 g Pt = 30,37% Pt.

Die Theorie verlangt für Betainplatinchlorid einen Gehalt von 30,26% Pt.

Die beim Umkrystallisieren der Quecksilberdoppelsalze zuletzt erhaltene Mutterlauge lieferte bei der Verarbeitung ein Produkt, welches neben Betain noch eine andere Base in geringer Menge zu enthalten schien. Bei Analyse des daraus dargestellten Chlorplatinats wurden für den Platingehalt in drei Bestimmungen Zahlen erhalten, die hinter dem theoretischen Platingehalt des Betainplatinchlorids (30,26%) um ca. 0,25% zurückblieben: dem entsprechend war auch der Goldgehalt des Chloraurats um ca. 0,3% niedriger, als derjenige des Betaingoldchlorids. Daraus darf man vielleicht schließen, daß dem aus der letzten Mutterlauge erhaltenen Betainchlorid eine andere Substanz in kleiner Quantität beigemischt war: über die Natur

dieser Substanz vermochten wir aber keinen Aufschluß zu gewinnen (selbstverständlich kann es sich hier nicht um eine Beimengung von Cholin handeln, da in diesem Falle für den Platingehalt des Chlorplatinats und den Goldgehalt des Chloraurats höhere Zahlen hätten gefunden werden müssen).

Die im vorigen gemachten Mitteilungen geben im Verein mit den in früher schon publizierten Abhandlungen sich findenden Angaben den Beweis dafür, daß es nicht schwer ist, auf dem von mir beschriebenen Wege Cholin und Betain voneinander zu trennen und rein darzustellen. Daß man in der gleichen Weise auch Cholin und Trigonellin trennen kann, geht zwar schon aus den von meinen Mitarbeitern und mir früher gemachten Mitteilungen hervor, ich will aber zum Beweise hier noch die Resultate einiger später ausgeführten Versuche mitteilen. Wir fanden, daß Cholin und Trigonellin nebeneinander in den Schoten der Erbse (*Pisum sativum*) enthalten sind. Die von den Körnern befreiten Schoten wurden zerkleinert und mit Wasser extrahiert, der Extrakt nach Entfernung der durch Bleiessig fällbaren Substanzen mit Phosphorwolframsäure versetzt. Den dabei erhaltenen Niederschlag verarbeiteten wir in der oben beschriebenen Weise. Cholin und Trigonellin wurden in Quecksilberdoppelsalze übergeführt, letztere mittels Schwefelwasserstoff zersetzt. Das dabei erhaltene Gemenge von Cholinchlorid und Trigonellinchlorid zerlegten wir mit Hilfe von kaltem, absolutem Alkohol. Das Cholin wurde in das Chlorplatinat übergeführt, letzteres sodann der Analyse unterworfen.

0,2049 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0651 g Pt = 31,77 % Pt.

Die für den Platingehalt des Chlorplatinats gefundene Zahl übersteigt um einen geringen Betrag den von der Theorie für Cholinplatinchlorid geforderten Wert (31,6 %), woraus zu schließen ist, daß das Chlorplatinat nicht durch Trigonellinplatinchlorid verunreinigt war: denn in diesem Falle hätte der für den Platingehalt jenes Doppelsalzes gefundene Wert hinter der Theorie zurückbleiben müssen.

Das mittels absoluten Alkohols vom Cholinchlorid befreite Trigonellinchlorid wurde aus Wasser umkrystallisiert. Das daraus

dargestellte basische Chloraurat zeigte den richtigen Schmelzpunkt (185°).

Im Verein mit den von meinen Mitarbeitern und mir früher schon gemachten Mitteilungen beweisen die im vorigen gemachten Angaben, daß das von mir beschriebene Verfahren sich sehr gut dazu eignet, das Cholin, das Betain und das Trigonellin aus Pflanzenextrakten zur Abscheidung zu bringen und die beiden zuletzt genannten Basen vom Cholin zu trennen. Ich will aber nun auch noch die früher von mir offen gelassene Frage besprechen, ob jenes Verfahren auch zur quantitativen Bestimmung der genannten Basen sich verwenden läßt. Wie schon oben erwähnt wurde, habe ich in meinen Abhandlungen hin und wieder Zahlen für die bei Verarbeitung von Pflanzenextrakten erhaltene Ausbeute an Cholin oder Betain gegeben; ich habe aber dabei stets angenommen, daß diese Zahlen hinter den in den Untersuchungsobjekten wirklich vorhandenen Quantitäten jener Basen zurückbleiben, da die Abscheidung der letzteren nicht ohne Verluste durchzuführen ist. Es war nun von Interesse, festzustellen, wie groß diese Verluste etwa sein können. Zu diesem Zwecke habe ich im Verein mit meinem Assistenten G. Trier eine Reihe von Versuchen angestellt, deren Resultate ich im folgenden mitteile.

#### A. Versuche mit Cholin.

Als Ausgangsmaterial für diese Versuche diente reines, schön krystallisiertes Cholinplatinchlorid; das in diesem Doppelsalze enthaltene Cholin war teils aus Embryonen von *Triticum vulgare* (s. die oben gemachten Angaben), teils aus Papilionaceen-Keimpflanzen dargestellt worden. Abgewogene Quantitäten des Chlorplatinats wurden mittels Schwefelwasserstoff zersetzt, das dabei erhaltene Cholinchlorid, dessen Menge aus dem Gewicht des Chlorplatinats sich berechnen ließ, für die verschiedenen Versuche verwendet. In einigen Fällen wurde das Cholinchlorid unter den durch seine Zerfließlichkeit bedingten Vorsichtsmaßregeln direkt gewogen, nachdem es im Vakuumexsikkator getrocknet worden war.

Um zu prüfen, wie groß die Cholinmenge ist, die beim

Versetzen einer Cholinchloridlösung mit Phosphorwolframsäure der Fällung entgeht, lösten wir 0,2584 g Cholinchlorid in 10 ccm 5 %iger Schwefelsäure und setzten sodann eine 50 %ige Phosphorwolframsäurelösung in schwachem Überschuß zu. Nach Verlauf von 24 Stunden wurde der Niederschlag abfiltriert und mit 5 %iger Schwefelsäure ausgewaschen, das Filtrat zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahls Methode verwendet.<sup>1)</sup> Wir fanden in diesem Filtrate nur 0,00086 g N. Dies beträgt 3,3 % der im angewendeten Cholinchlorid enthaltenen Stickstoffmenge.

In zwei anderen Versuchen wurden die Filtrate von den mit 5 %iger Schwefelsäure ausgewaschenen Phosphorwolframsäureniederschlägen im Wasserbade eingeengt, wobei schwache Ausscheidungen entstanden, dann wieder aufs Filter gebracht; die Filter wurden mit 5 %iger Schwefelsäure ausgewaschen. Die Filtrate dienten dann wieder zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahls Methode. Die in diesen Filtraten vorgefundenen Stickstoffmengen betragen

a) 2,60 %,

b) 3,35 %.

der im angewendeten Cholinchlorid enthaltenen Quantitäten.

In einem vierten Versuche schlugen wir zur Bestimmung der Cholinmenge, die der Ausfällung durch Phosphorwolframsäure entgangen war, einen andern Weg ein. Wir lösten 0,4048 g Cholinchlorid in ca. 15 ccm 5 %iger Schwefelsäure und versetzten die Lösung mit Phosphorwolframsäure in schwachem Überschuß: nach 24 Stunden wurde der Niederschlag aufs Filter gebracht und mit 5 %iger Schwefelsäure ausgewaschen. Das Filtrat versetzten wir zur Entfernung der Schwefelsäure und der Phosphorwolframsäure mit Barytwasser

<sup>1)</sup> Da dieses Filtrat noch Phosphorwolframsäure enthält, so ist es möglich, daß während der Ausführung der Bestimmung phosphorwolframsaures Ammonium sich abscheidet. Es empfiehlt sich daher, bei Überführung des Kolbeninhaltes in das zum Abdestillieren des Ammoniaks bestimmte Gefäß einen im Kolben etwa befindlichen Bodensatz, falls derselbe an der Glaswandung anhaftet, mit Hilfe von sehr verdünnter Natronlauge zu lösen und dann in den Destillierkolben zu bringen.

bis zur alkalischen Reaktion und leiteten sodann zur Beseitigung des überschüssigen Baryumhydroxyds Kohlensäure ein. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen, sodann noch mit Wasser ausgekocht: die bei letzterer Operation erhaltene Lösung wurde mit dem zuerst erhaltenen Filtrate vereinigt. Dieses Filtrat wurde nun eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit heißem Alkohol behandelt, wobei Chlorbaryum ungelöst blieb. Die dabei erhaltene Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit absolutem Alkohol behandelt, die Lösung in ein Wäggläschen gebracht, letzteres sodann in einem Wasserbade erhitzt, bis der Alkohol verdunstet war. Der im Wäggläschen verbliebene Salzurückstand wurde zuerst im Vakuumexsikkator, dann noch kurze Zeit bei 100° getrocknet, hierauf gewogen. Sein Gewicht betrug 0,0158 g. Nimmt man an, daß dieser Rückstand aus reinem Cholinchlorid bestand, so ergibt sich, daß 3,9 % des für den Versuch verwendeten Cholins der Ausfällung durch Phosphorwolframsäure entgangen waren.

Diese Versuche haben eine Bestätigung der schon von A. Kiesel (loc. cit.) gemachten Angabe geliefert, daß beim Versetzen einer mit Schwefelsäure angesäuerten Cholinchloridlösung mit Phosphorwolframsäure nur ein sehr kleiner Teil des Cholins der Fällung entgeht.<sup>1)</sup> In unsern Versuchen sind 96,1—97,4 % des Cholins in die Phosphorwolframsäureniederschläge eingegangen. Allerdings waren die Versuchsbedingungen hier sehr günstig für eine vollständige Ausfällung der genannten Base und es muß für wahrscheinlich erklärt werden, daß dieselbe aus einer verdünnteren Lösung, die neben Cholin noch andere Substanzen enthält, nicht so vollständig durch das genannte Reagens gefällt wird.

Wir untersuchten das Cholin ferner auf seine Fällbarkeit durch Mercurichlorid in alkoholischer Lösung. Wir lösten 0,1410 g Cholinchlorid in absolutem Alkohol und fügten eine

<sup>1)</sup> Auch einige von E. Winterstein und O. Hiestand in unserem Laboratorium ausgeführte Versuche zeigten, daß beim Versetzen einer Cholinchloridlösung mit Phosphorwolframsäure nur ein sehr kleiner Teil des Cholins der Fällung entgeht.

alkalische Mercurichloridlösung im Überschuß zu, wobei sofort ein Niederschlag entstand. Dieser Niederschlag wurde nach 24 Stunden abfiltriert und mit Alkohol ausgewaschen. Das Filtrat wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahls Verfahren verwendet. Wir fanden darin  $0,000715 \text{ g N} = 5,04 \%$  der im angewendeten Cholinchlorid enthaltenen Stickstoffmenge:

In einem zweiten Versuche wurden  $0,5275 \text{ g}$  Cholinchlorid in noch konzentrierterer alkoholischer Lösung mit Mercurichlorid versetzt, der Niederschlag nach mehrtägigem Stehen abfiltriert und mit Alkohol ausgewaschen. Das Filtrat wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in Wasser gelöst, die Lösung mittels Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und sodann eingedunstet. Das Gewicht des dabei erhaltenen Cholinchlorids betrug nach dem Austrocknen im Vakuumexsikkator nur  $0,0120 \text{ g} = 2,3 \%$  der für den Versuch verwendeten Quantität von Cholinchlorid. In diesem Versuche war also die der Ausfällung entgangene Cholinchloridmenge noch etwas geringer als im ersten, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß die Versuchsbedingungen nicht ganz die gleichen waren.

Wie aus diesen Angaben hervorgeht, sind in unseren Versuchen  $95,0\text{—}97,7 \%$  des Cholins in die durch Mercurichlorid hervorgebrachte Fällung eingegangen. Versetzt man eine konzentrierte wässrige Cholinchlorid-Lösung mit einer in der Kälte gesättigten wässrigen Lösung von Mercurichlorid, so scheidet sich nach kurzer Zeit ein krystallinischer Niederschlag aus, dessen Menge beim Stehen noch zunimmt. Doch bleibt in diesem Falle mehr Cholin gelöst, als bei der Fällung durch Mercurchlorid in alkoholischer Lösung.<sup>1)</sup> Es braucht

<sup>1)</sup> Wir haben zu bestimmen versucht, wie viel Wasser das Cholinquecksilberchlorid zur Lösung bedarf. Zu diesem Zwecke ließen wir ein Quantum dieses Doppelsalzes mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Wassermenge unter häufigem Umschütteln 24 Stunden lang in Berührung. Die Lösung wurde abfiltriert und hierauf eingedunstet; das dabei zurückgebliebene Salz gewogen; ein Teil des Salzes hatte ca. 50 Teile Wasser zur Lösung bedurft. Die in dieser Weise bei Ausführung mehrerer Versuche erhaltenen Resultate zeigten aber keine gute Übereinstimmung. Der Grund dafür liegt wahrscheinlich darin, daß bei Einwirkung von

aber kaum gesagt zu werden, daß man durch Einengen der Mutterlauge noch Quecksilberdoppelsalz gewinnen und auf diese Weise den durch die größere Löslichkeit dieses Doppelsalzes in Wasser bedingten Verlust auf einen sehr geringen Betrag herabdrücken kann.

### B. Versuche mit Betain.

Für diese Versuche verwendeten wir meistens ein Präparat von Betainchlorid, welches bei der Verarbeitung junger Pflänzchen von *Vicia sativa* erhalten worden war; nur in einem Falle kam ein aus den Embryonen von *Triticum vulgare* dargestelltes Präparat zur Verwendung.

Abgewogene Mengen von Betainchlorid wurden in 5%iger Schwefelsäure gelöst, die Lösungen mit Phosphorwolframsäure in schwachem Überschusse versetzt. Die Niederschläge wurden nach 48 Stunden abfiltriert und mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen, die Filtrate zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahls Verfahren verwendet. Wir erhielten folgende Resultate.

Angewendet	Gefunden im Filtrat
0,2692 g Betainchlorid	0,00028 g N = 1,16 % des Gesamtstickstoffs
0,2318 g „	0,00023 g = 1,08 % „

Es waren also fast 99% des für den Versuch verwendeten Betains in den Phosphorwolframsäureniederschlag eingegangen.

In einem dritten Versuche war bei der Fällung durch Phosphorwolframsäure ein etwas größerer Teil, nämlich 2,86% des Betains in Lösung geblieben. (Angewendet 0,5384 g Betainchlorid, im Filtrate gefunden 0,00115 g N = 2,86% des Gesamtstickstoffs.) Die Versuchsbedingungen waren in diesem Falle nur insofern andere, als der Phosphorwolframsäureniederschlag schon nach kürzerem Stehen abfiltriert wurde.

Ferner lösten wir 0,4226 g Betainchlorid in heißem

Wasser das Cholinquecksilberchlorid partiell durch Hydrolyse zersetzt wird. Daraus erklärt sich auch wohl die geringe Übereinstimmung der in der Literatur sich findenden Angaben über die Löslichkeit des genannten Doppelsalzes in Wasser. Wie oben schon erwähnt wurde, haben wir mit Rücksicht auf dieses Verhalten des Cholinquecksilberchlorids beim Umkrystallisieren desselben etwas Mercurichlorid zugesetzt.

95 %igem Alkohol unter Zusatz von ein wenig Wasser und fügten dann eine in der Kälte gesättigte alkoholische Mercurichlorid-Lösung zu. Der dadurch hervorgebrachte krystallinische Niederschlag, der sich nicht augenblicklich bildete, wurde nach einigen Tagen abfiltriert und mit absolutem Alkohol ausgewaschen. Das Filtrat, in welchem noch eine kleine Ausscheidung erfolgt war, wurde noch einmal filtriert, dann eingedunstet: den Verdampfungsrückstand lösten wir in Wasser, befreiten die Lösung mittels Schwefelwasserstoff vom Quecksilber und dunsteten sie sodann ein. Das Gewicht des dabei zurückgebliebenen Betainchlorids betrug, nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator,  $0,0488 \text{ g} = 11,6\%$  der für den Versuch verwendeten Quantität. Dieses Ergebnis zeigt, daß das Betainquecksilberchlorid in Alkohol leichter löslich ist, als das Cholinquecksilberschlorid. Man wird also, wenn man Betain durch Mercurichlorid ausfällen will, gut daran tun, die Mutterlauge einzuengen, um den durch die größere Löslichkeit des Doppelsalzes bedingten Substanzverlust zu verringern.

Daß das Betainquecksilberchlorid auch in Wasser leichter löslich ist als das Cholinquecksilberchlorid, wurde schon weiter oben hervorgehoben.

Da man das Cholinchlorid mit Hilfe von absolutem Alkohol vom Betainchlorid trennt, so war es von Interesse, die Löslichkeit des letzteren Salzes in Alkohol zu bestimmen. Wir ließen gepulvertes, im Exsikkator getrocknetes Betainchlorid 24 Stunden lang unter häufigem Umschütteln mit wasserfreiem Alkohol bei Zimmertemperatur ( $17-18^\circ$ ) in Berührung: die Lösung wurde dann abfiltriert, der Rückstand wieder in der gleichen Weise mit wasserfreiem Alkohol behandelt, die dabei entstandene Lösung wieder abfiltriert. Abgewogene Quantitäten dieser Lösungen wurden in Wäggläsern eingedunstet, die dabei verbliebenen Salzurückstände getrocknet und gewogen. Dabei erhielten wir folgende Zahlen:

- a) 13,3 ccm Lösung gaben 0,0362 g Rückstand
- b) 13,45 » » » 0,0369 » » »

Demnach hatte 1 g Betainchlorid im Mittel 365 ccm wasserfreien Alkohol zur Lösung gebraucht.

### C. Versuche mit Trigonellin.

Das für diese Versuche verwendete Trigonellin war aus Hanfsamen dargestellt worden.

Wir lösten 0,4869 g Trigonellinchlorid in 5%iger Schwefelsäure, versetzten die Lösung mit Phosphorwolframsäure in schwachem Überschuß, brachten den Niederschlag nach 24 Stunden aufs Filter, wuschen ihn mit 5%iger Schwefelsäure aus und bestimmten sodann den Stickstoffgehalt des Filtrats nach Kjeldahls Methode. Wir fanden darin 0,00115 g N = 2,90% des Gesamtstickstoffs: also waren 97,1% des Trigonellins in den Niederschlag eingegangen.

Ferner lösten wir 0,7440 g Trigonellinchlorid in heißem 95%igem Alkohol unter Zusatz von wenig Wasser und fügten der erkalteten Lösung eine gesättigte alkoholische Mercurichloridsolution im Überschuß zu. Nach Verlauf von 2 Tagen wurde der krystallinische Niederschlag abfiltriert und mit absolutem Alkohol ausgewaschen. Im Filtrate fanden sich noch 0,0377 g Trigonellinchlorid = 5,07% der für den Versuch verwendeten Menge vor (der Versuch wurde so ausgeführt, wie es oben für Betainchlorid angegeben worden ist). Es waren also nahezu 95% des Trigonellins durch Mercurichlorid in alkoholischer Lösung gefällt worden.

Endlich bestimmten wir noch die Löslichkeit des Trigonellinchlorids in wasserfreiem Alkohol, wobei wir so verfahren, wie es oben für Betainchlorid angegeben worden ist. Wir erhielten folgende Zahlen:

a) 17,3 ccm Lösung gaben 0,0500 g Rückstand

b) 19,0 „ „ „ 0,0558 „ „

Demnach hatte sich 1 g Trigonellinchlorid bei Zimmertemperatur in 344 ccm wasserfreien Alkohols gelöst.

Aus den im vorigen gemachten Mitteilungen geht hervor, daß das Cholin, das Betain und das Trigonellin aus ihren mit Schwefelsäure versetzten Lösungen durch Phosphorwolframsäure zwar nicht ganz vollständig gefällt wurden, daß aber die ins Filtrat übergegangene Quantität dieser Basen unter

den von uns gewählten Versuchsbedingungen doch nur gering war: diese Quantität betrug in unseren Versuchen 1,1–3,9% der angewendeten Basenmenge. Es muß für wahrscheinlich erklärt werden, daß die genannten Basen aus Lösungen, welche verdünnter sind und außerdem noch andere Substanzen enthalten, durch Phosphorwolframsäure nicht ganz im gleichen Grade ausgefällt werden.

Ferner zeigen die von uns gemachten Angaben, daß bei Fällung des Cholins und des Trigonellins durch Mercurichlorid in alkoholischer Lösung 95% dieser Basen in die Niederschläge eingingen; nur 5% fanden sich also noch in den Filtraten vor. Beim Betain war der ins Filtrat übergegangene Betrag ein größerer, nämlich 11,6% der angewendeten Basenmenge. Daraus folgt, daß man die Filtrate einengen soll, um noch einen Teil der darin sich vorfindenden Quecksilberdoppelsalze zu gewinnen. Das Gleiche gilt auch für den Fall, daß man die genannten Basen durch Mercurichlorid in wässriger Lösung ausfällt.

Bei Abscheidung einer der oben genannten Basen aus einem Pflanzenextrakt auf dem von mir angegebenen Wege sind also zwar Substanzverluste nicht völlig zu vermeiden: diese Verluste sind aber bei geeigneter Ausführung der beschriebenen Operationen doch relativ gering. Es muß daher für möglich erklärt werden, den Gehalt pflanzlicher Substanzen an Cholin, Betain und Trigonellin auf dem angegebenen Wege wenigstens approximativ zu bestimmen — vorausgesetzt, daß bei der Darstellung der Extrakte und bei der Reinigung der letzteren mittels Bleiacetat usw. Verluste an jenen Basen nicht stattfinden. Daß man bei Anwendung des Staněkschen Verfahrens genauere Gehaltszahlen erhalten kann, muß bezweifelt werden. Es ist zwar möglich, daß die genannten Basen durch Kaliumtrijodid aus den Extrakten etwas vollständiger gefällt werden als durch Phosphorwolframsäure; dies würde aber nur dann einen wesentlichen Vorteil bringen, wenn man aus dem Stickstoffgehalt der Niederschläge die darin sich vorfindende Quantität von Cholin, Betain oder Trigonellin berechnen könnte. Wie aus den von A. Kiesel loc. cit. an einigen cholinhaltigen

Objekten angestellten Versuchen hervorgeht, trifft dies aber nicht zu; die durch Kaliumtrijodid hervorgebrachten Niederschläge enthielten neben Cholin noch Stickstoffverbindungen von unbekannter Natur. Ist dies aber der Fall, so muß man, um den Gehalt der Niederschläge an Cholin zu erfahren, dieselben zerlegen und das Cholin von den Beimengungen trennen; ob dies aber sich quantitativ durchführen läßt, ist fraglich. Es ist nicht anzunehmen, daß bei Objekten, welche Betain oder Trigonellin enthalten, die Sachlage eine andere ist.

Es ist noch die Frage zu erörtern, ob bei Anwendung des von mir beschriebenen Verfahrens das Cholin quantitativ vom Betain und Trigonellin getrennt werden kann.<sup>1)</sup> Wie aus den oben gemachten Angaben zu ersehen ist, behandelt man zur Trennung das Gemenge von Cholinchlorid und Betainchlorid oder Trigonellinchlorid mit kaltem wasserfreiem Alkohol: Cholinchlorid geht in Lösung, während die beiden anderen Chloride ungelöst bleiben. Da die letzteren in kaltem wasserfreiem Alkohol sich zwar sehr wenig lösen,<sup>2)</sup> aber darin doch nicht ganz unlöslich sind, so sind die in der beschriebenen Weise erhaltenen Cholinchlorid-Lösungen nicht ganz frei von den anderen Chloriden. Man kann letztere partiell entfernen, indem man die bezügliche Lösung eindunstet, den Verdampfungsrückstand im Vakuumexsikkator trocknet und ihn sodann zur Extraktion des Cholinchlorids wieder mit wasserfreiem Alkohol behandelt, wobei man einen großen Überschuß dieses Lösungsmittels möglichst zu vermeiden sucht. Die dabei erhaltene, filtrierte Lösung kann dann noch einmal in der gleichen Weise behandelt werden. Gelingt es aber auf diesem Wege, auch einen Teil des in die erste Lösung übergegangenen Betainchlorids oder Trigonellinchlorids zu entfernen, so kann man doch Cholinchloridlösungen, die völlig frei von den anderen Chloriden sind, in solcher Weise selbstverständlich nicht erhalten.

<sup>1)</sup> Daß bisher niemals Betain und Trigonellin nebeneinander in einer Pflanze gefunden wurden, ist oben schon erwähnt worden.

<sup>2)</sup> Wie oben angegeben worden ist, bedarf ein Teil Betainchlorid bei Zimmertemperatur ca. 365 Teile, ein Teil Trigonellinchlorid 344 Teile wasserfreien Alkohols zur Lösung.

Nach Staněks Angaben kann man eine Trennung des Cholins und des Betains auf den Umstand gründen, daß die eine dieser Basen nur in saurer Lösung, die andere auch in alkalischer Lösung durch Kaliumtrijodid gefällt wird. Über die Brauchbarkeit dieses Verfahrens habe ich kein auf eigene Versuche oder auf Versuche meiner Mitarbeiter sich gründendes Urteil. Daß das Verfahren aber nicht nur einige Schwächen hat, sondern auch umständlich ist, geht aus den von Staněk selbst in seiner dritten Abhandlung<sup>1)</sup> darüber gemachten Angaben hervor. Ich verweise auf die dort sich findenden Darlegungen und erwähne hier nur noch, daß Staněk zur Trennung des Cholins vom Betain häufig wieder zur alten Methode, d. h. zur Behandlung des Chloridgemenges mit kaltem, absolutem Alkohol, gegriffen hat.

Wie oben schon erwähnt worden ist, hat E. Jahns, der Entdecker des Trigonellins, bei Abscheidung dieser Base aus den Trigonellasamen Kaliumwismutjodid als Fällungsmittel benutzt. Über sein Verfahren und über die Art und Weise, in der er das Trigonellin vom Cholin trennte, seien hier noch folgende kurze Angaben gemacht: Ein in geeigneter Weise dargestellter und gereinigter Extrakt wurde mit Kaliumwismutjodid und Schwefelsäure versetzt. Der dabei erhaltene ziegelrote Niederschlag, der zum Teil sofort, zum Teil erst nach längerem Stehen sich abschied und auch noch Eiweißstoffe enthielt, wurde mit Soda zersetzt. Die filtrierte Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure genau neutralisiert und sodann mit so viel Mercurichlorid versetzt, daß kein überschüssiges Jodnatrium mehr vorhanden war; der hellgelbe Niederschlag hatte dann einen rötlichen Ton von beigemengtem Jodquecksilber angenommen. Aus der neutralen, mäßig verdünnten Lösung fiel dann nur das Quecksilberdoppelsalz des Cholins nieder. Beim Ansäuern des Filtrats mit Schwefelsäure schied sich Trigonellinquecksilberchlorid in öligen, bald krystallinisch erstarrenden Tropfen aus, gemengt

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 334. Selbstverständlich gelingt die Trennung am leichtesten, wenn ein von anderen Stoffen freies Gemenge von Cholin und Betain vorliegt. Was oben gesagt ist, bezieht sich nicht auf diesen Fall.

mit Blättchen und Nadeln der gleichen Verbindung. Von letzterer war durch Eindunsten der überstehenden Flüssigkeit und nochmaligen Zusatz von Mercurichlorid noch eine erhebliche Menge zu gewinnen. Dieses Verfahren ist ziemlich langwierig; vor der von mir oben beschriebenen Methode zur Abscheidung von Trigonellin besitzt es ohne Zweifel keinen Vorzug.

Zum Schluß meiner Abhandlung will ich einige Worte über den Wert sagen, der den bei Bestimmung des Gehalts der Pflanzen an Cholin, Betain oder Trigonellin erhaltenen Zahlen zukommt. Auch wenn man ein Fällungsmittel besitzt, durch welches die genannten Basen aus den Extrakten vollständig niedergeschlagen werden, können doch jene Zahlen nur genau sein, falls bei Extraktion des Untersuchungsobjektes diese Basen vollständig in Lösung gehen und falls sie durch die zur Reinigung des Extraktes ausgeführten Operationen nicht partiell aus dem Extrakt entfernt werden. Staněk extrahierte bei Ausführung seiner Bestimmungen die Untersuchungsobjekte mit Alkohol; wie oben schon erwähnt wurde, ist es nach den von uns gemachten Erfahrungen fraglich, ob jene Basen quantitativ in den Alkoholextrakt übergehen. Was den zweiten Punkt betrifft, so haben wir öfters die Beobachtung gemacht, daß beim Versetzen der Pflanzenextrakte mit Fällungsmitteln Stoffe, die durch das betreffende Fällungsmittel aus reinen Lösungen nicht niedergeschlagen werden, zum Teil in die Fällungen eingehen. Für die Annahme, daß in die durch Bleiessig in den Extrakten hervorgebrachten Niederschläge eine der genannten Basen partiell eingeht, liegt freilich ein Anhaltspunkt nicht vor: nicht unbedenklich ist aber die Verwendung von Tannin zur Reinigung der Extrakte. Denn nach Gulewitsch<sup>1)</sup> ist das Tannat des Cholins schwer löslich in neutralen Flüssigkeiten.<sup>2)</sup>

Gesetzt aber auch, daß bei der Darstellung und bei der Reinigung der Extrakte Verluste an den genannten Basen nicht eingetreten sind, so werden doch bei Ausfällung derselben sowie bei ihrer Überführung in wägbare Verbindungen — mag man

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 522.

<sup>2)</sup> Ich führe dies hier an, weil Staněk zur Reinigung der von ihm auf Cholin und Betain untersuchten Extrakte Tannin verwendet hat.

diese Operation nun in der einen oder in der anderen Weise ausführen — solche Verluste kaum zu vermeiden sein: man wird daher für den Gehalt der Untersuchungsobjekte an jenen Basen stets etwas zu niedrige Zahlen finden. Für den Zweck, den man bei Ausführung solcher Versuche verfolgt, wird es in der Regel genügen, die genannten Basen approximativ zu bestimmen. Zur Begründung dieses Ausspruchs weise ich noch darauf hin, daß allem Anschein nach der Gehalt der gleichen Pflanze und des gleichen Pflanzenteils an Cholin starke Schwankungen zeigt: wenigstens erhielten wir bei Untersuchung von drei Mustern der entschälten Samen von Cucurbita Pepo für den Cholingehalt weit voneinander abweichende Zahlen.<sup>1)</sup> Es braucht aber kaum gesagt zu werden, daß es auch Fälle geben kann, in denen eine genaue Bestimmung des Gehalts eines Objektes an Cholin oder an einer anderen der oben genannten Basen für wünschenswert erklärt werden muß.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Die Ausbeute an Cholin betrug bei einem Muster entschälter Kürbissamen 0,055%, bei einem zweiten 0,037%, bei einem dritten 0,015%. Vielleicht ist bei einer jeden Samenart der nicht den Phosphatiden angehörende Teil des Cholins bald größer, bald geringer. Die Schwankungen im Gehalt der Samen an Betain und an Trigonellin sind vielleicht viel geringer.

<sup>2)</sup> Ein solcher Fall liegt z. B. vor, wenn es sich darum handelt, die bei Zerlegung eines Phosphatids entstehende Cholinmenge quantitativ zu bestimmen.