

Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Phosphatide.

II. Mitteilung.

Von

E. Winterstein und O. Hiestand.

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

(Der Redaktion zugegangen am 21. Dezember 1907.)

In Band XLVII dieser Zeitschrift ¹⁾ haben wir eine kurze vorläufige Mitteilung gemacht, welche den Titel führt: Zur Kenntnis der pflanzlichen Lecithine. In dieser Abhandlung wurde schon angeführt, daß unsere Arbeit sich anschließt an die Untersuchungen E. Schulze und E. Winterstein. ²⁾ Wir hatten gefunden, daß die aus Pflanzensamen nach den üblichen Methoden dargestellten Lecithinpräparate in der Regel Kohlenhydratkomplexe teils in geringer, teils in größerer Menge einschlossen.

Mit Rücksicht auf diesen Befund schien es uns wünschenswert, für die äther- und alkohollöslichen, phosphorhaltigen Pflanzenbestandteile einen allgemeinen Ausdruck zu gebrauchen, wir wählten die Bezeichnung Phosphatide, ³⁾ welche Thudichum für die äther- und alkohollöslichen, phosphorhaltigen Verbindungen des Gehirns gebraucht hat.

Unsere Mitteilung bezieht sich hauptsächlich auf die aus Cerealien dargestellten und eingehender untersuchten Phosphatide, doch sind auch die bei Untersuchung der aus anderen Samen und anderen pflanzlichen Objekten erhaltenen Versuchsergebnisse mit aufgeführt.

Mit Rücksicht auf die bei Untersuchung der aus den Samen darstellbaren Phosphatide erhaltenen Ergebnisse erschien es uns angezeigt, solche phosphorhaltige Verbindungen auch

¹⁾ S. 496.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 101.

³⁾ Diese Bezeichnung wird auch von O. Hammarsten (Ergebnisse der Physiologie, 1905), von A. Erlandsen (Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 71), M. Stern und H. Thierfelder (Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 370) gebraucht.

aus grünen Pflanzensamen darzustellen und auf ihren Kohlenhydratgehalt zu untersuchen. Trotzdem es uns bis jetzt noch nicht gelungen ist, die Phosphatide der assimilierenden Organe von den begleitenden Farbstoffen zu trennen, möchten wir doch die Ergebnisse der bezüglichen Untersuchungen am Ende unserer Abhandlung kurz mitteilen.

Darstellung der Präparate.

Bezüglich der Darstellung der Präparate hielten wir uns an die von E. Schulze und seinen Mitarbeitern gemachten Angaben. Kleine Abweichungen bei der Darstellung ergaben sich aus der Beschaffenheit des Ausgangsmateriales.

Die Herstellung gestaltete sich im allgemeinen in folgender Weise: Das zuvor getrocknete, fein gepulverte Material wurde zunächst im Perkolator einige Zeit in der Kälte, sodann im Thörnerschen Apparat in der Wärme mit Äther möglichst vollständig vom Fett befreit, der dabei verbliebene lufttrockene Rückstand mit 95%igem resp. absolutem Alkohol bei 45—55° extrahiert, das alkoholische Extrakt vom Rückstand durch Filtration getrennt, letzterer abgepreßt und die Extraktion dieses Rückstandes wiederholt, bis nahezu nichts mehr in Lösung ging. Aus diesem Alkoholextrakt wurden die Präparate gewonnen. Etwas eingehender wurde das aus *Triticum vulgare* und aus *Lupinus albus* hergestellte Präparat untersucht. Die Darstellung größerer Mengen Ausgangsmaterial wäre mit den uns zu Gebote stehenden Mitteln nicht möglich gewesen; wenn nicht die Firma Blattmann & Co. in Wädensweil in so anerkennenswerter Weise die Darstellung größerer Mengen Ausgangsmaterial übernommen und in sachgemäßer Weise ausgeführt hätte. Von einer detaillierten Untersuchung aller von uns hergestellten Präparate mußten wir absehen, da zu solchen Untersuchungen große Mengen Material notwendig gewesen wären und die Herstellung größerer Mengen in unserem Laboratorium recht zeitraubend und mühsam ist.

Phosphatid aus Cerealien.

Wir beschäftigten uns hauptsächlich mit dem Phosphatid aus Weizenmehl. Die Darstellung desselben geschah in fol-

gender Weise: Das Weizenmehl wurde zuerst in geeigneter Weise durch Auswaschen von der Stärke befreit, der Rückstand bei etwa 80° getrocknet, mit Äther möglichst vollständig entfettet und der nach der Ätherextraktion zurückgebliebene Rückstand mehrmals mit 95%igem Alkohol ausgekocht. In einigen Fällen wurde das Ausgangspräparat auch durch direktes Behandeln des nahezu stärkefreien Materiales mit Alkohol gewonnen. Der Alkohol wurde zunächst im Wasserbade bei etwa 80° abdestilliert und die nun zurückbleibende, ölige, braungefärbte Masse vom anhaftenden Alkohol im Vacuum bei 30—40° befreit.

Der beim Abdestillieren des Alkohols verbleibende Rückstand wurde in Äther gelöst, vom Unlöslichen getrennt und die klare Ätherlösung der Destillation unterworfen. Vom letzten Rest des Äthers wird das Präparat am besten durch Aufbewahren im evakuierten Exsikkator befreit. Das so erhaltene Material ist eine braungelbe, salbenartige, hygroskopische Masse. Eine Probe eines so gewonnenen Präparates enthielt 0,8% Phosphor.

0,7584 g Substanz gaben 0,218 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,80% P.

Da wir eine große Anzahl von Phosphorbestimmungen auszuführen hatten, benutzten wir die von A. E. Grete¹⁾ angegebene Methode der Titration mit Molybdänsäure bei Gegenwart von Leim. Diese Methode ist sehr expeditiv und gibt bei einiger Übung sehr gut übereinstimmende Resultate. Behufs Kontrolle wurde in manchen Fällen die Bestimmung des Phosphors nach der bekannten Molybdänmethode ausgeführt. So fanden wir beispielsweise in unserem Rohpräparat nach dieser letzten Methode, wie oben angegeben, 0,80%; nach der Methode von Grete 0,86% P.

0,6812 g Substanz,²⁾ 5,4 ccm Molybdänlösung. 1 ccm derselben entsprach 0,0025 g P_2O_5 .

Der durch Auswaschen mit Wasser von der Stärke möglichst befreite Rückstand des Weizenmehles gibt an Äther und

¹⁾ König, Untersuchung landw. wichtiger Stoffe, 1898, S. 147.

²⁾ Die Substanz wurde natürlich zunächst mit Salpeter und Soda verbrannt und die Schmelze nach dem Auflösen in Wasser mit Salpetersäure neutralisiert und diese Lösung für die Titration verwendet.

Alkohol über 5% seiner Substanz ab, wie aus folgenden Zahlen zu sehen ist:

30 kg stärkefreien, lufttrockenen Rückstandes verloren beim Trocknen 1,32 kg Feuchtigkeit. Nach der Extraktion mit Äther und Alkohol wurde der unlösliche Rückstand wieder getrocknet und wog nun 27 kg. Es wurden also 1,68 kg oder 5,6% extrahiert. Durch einen weiteren Versuch fanden wir, daß beim Behandeln mit Äther allein 1,25% in Lösung gehen.

Die durch Extraktion des stärkefreien Mehles mit Äther gewonnene Masse besitzt einen Phosphorgehalt von 0,13%, enthält also eine nicht unbedeutende Menge organischer Phosphorverbindungen, doch mußten wir von einer Untersuchung dieser Phosphorverbindung zunächst absehen, da eine Trennung von dem beigemengten Fett und Cholesterinestern bis jetzt nicht durchführbar war.

Versuche zur Herstellung von reinem Lecithin. Wir betrachteten es als eine Hauptaufgabe, aus den in beschriebener Weise dargestellten Präparaten reines Lecithin herzustellen; trotzdem dieses Ziel bisher noch nicht erreicht werden konnte, möchten wir doch einige in dieser Richtung angestellten Versuche beschreiben.

Es wird gewöhnlich angegeben, daß man aus einer alkoholischen resp. ätherisch-alkoholischen, lecithinhaltigen Lösung das Lecithin durch Zusatz von Aceton ausfällen könne. Wir erhielten auf Zusatz von Aceton zu einer absolut-alkoholischen Lösung meistens nur eine Trübung oder unbedeutende Fällung.

Obschon das stärkefreie Mehl durch andauernde Extraktion mit Äther möglichst befreit war, konnten unsere Präparate doch noch kleine Mengen Fett einschließen. Es ist ja eine bekannte Tatsache, daß es nicht gelingt, nur durch Ätherextraktion getrocknete, vegetabilische Objekte vom Fett gänzlich zu befreien.

Da das reine Lecithin in Aceton sehr schwer löslich ist, Fett sich hingegen darin leicht auflöst, wurde ein Teil des Rohpräparates mit Aceton übergossen und in der Kälte digeriert. Die klare Acetonlösung wurde dann vom Rückstand abdekantiert und diese Operation oft wiederholt. Durch diese

Behandlung ging eine größere Menge einer fettartigen Substanz in Lösung. So erhielten wir in einem Fall aus 454 g des Rohpräparates 136 g in Aceton unlöslichen Rückstandes. Der im Aceton lösliche und darin unlösliche Anteil unseres Ausgangsmaterials waren phosphorhaltig.

Wir behandelten nun ferner das Rohpräparat mit Aceton in der Wärme und ließen die Lösung längere Zeit stehen. Nach dem Abdestillieren des Acetons fanden wir einen Rückstand,¹⁾ welcher 0,3% Phosphor enthielt. Die in Aceton unlösliche Masse enthielt 0,94% Phosphor.

Durch die Behandlung mit Aceton gehen also nicht unbeträchtliche Mengen einer phosphorhaltigen Substanz in Lösung. Aceton eignet sich also bei diesen Präparaten nicht zur Trennung der phosphorhaltigen Substanz von den Beimengungen. Da wir vermuteten, daß der niedere Phosphorgehalt unserer Präparate von beigemengtem Fett herrührt, untersuchten wir die Löslichkeit einer großen Zahl von Fetten in einer Reihe von organischen Flüssigkeiten. Aber beinahe alle Lösungsmittel, die Fett gut lösen, haben auch ein großes Lösungsvermögen für Lecithin. Wir fanden, daß Fette sich in Methylacetat sehr gut, Lecithin hingegen nur sehr schwer und auch die in unseren Präparaten enthaltenen organischen Phosphorverbindungen sich in Methylacetat schwerer auflösen als die anderen Beimengungen. Es wurde nun versucht, mittels dieses Lösungsmittels ein an Phosphor reicheres Produkt zu erhalten. Die Behandlungsweise war folgende: Je ungefähr 20 g des Rohpräparates wurden mit ca. 50 ccm Methylessigester übergossen und zum gelinden Sieden erwärmt. Beim Abkühlen schied sich in der anfänglich klaren Lösung eine weiße Substanz aus; diese Lösung wurde abgegossen und die Extraktion oft wiederholt. Der Phosphorgehalt des in Essigester unlöslichen Rückstandes war durch diese Behandlung auf ca. 1,5% Phosphor gestiegen. Wurde diese Operation noch einigemal wiederholt so stieg der Phosphorgehalt auf 1,7%. Eine Substanz von höherem Phosphorgehalt konnte auf diese Weise nicht dargestellt werden, weil

¹⁾ Die Quantität dieses Rückstandes betrug ungefähr $\frac{1}{3}$ des hierzu verwendeten Ausgangsmaterials.

durch das öftere Behandeln mit dem genannten Lösungsmittel allmählich alles in Lösung ging. Es war uns also durch die angegebene Behandlungsweise des Rohproduktes nicht gelungen, ein Präparat von solchem Phosphorgehalt herzustellen, wie er dem eigentlichen Lecithin zukommt.

Die kleinen Mengen einer weißen Substanz, welche beim Abkühlen der Methylacetatlösung auskrystallisierten, bestanden zum größten Teil aus Cholesterin: sie gaben nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol die für Cholesterin charakteristischen Reaktionen.

Es war nun festzustellen, ob der niedere Phosphorgehalt durch die Anwesenheit größerer Mengen von freiem Cholesterin bzw. Cholesterinestern bedingt werde. Zu diesem Zwecke führten wir eine quantitative Bestimmung des Cholesterins in einem unserer Präparate aus. Wir verfahren wie folgt: 50 g des Präparates, dessen Phosphorgehalt 1,5% betrug, wurden in heißem Alkohol gelöst und mit 9 g Natriumalkoholat verseift. Die Seifen wurden mit festem Kochsalz versetzt, die Masse getrocknet, pulverisiert und 9 Stunden im Soxhlet-Apparat mit Äther extrahiert. Hierauf wurden die Seifen herausgenommen, wieder getrocknet, pulverisiert und dann von neuem mit Äther extrahiert. Aus den vereinigten ätherischen Extrakten schied sich beim Abdestillieren des Äthers eine weiße, nach Fettsäuren riechende Masse ab. Diese wurden nochmals mit etwas alkoholischer Kalilauge gekocht, zur Trockene eingedunstet und mit Äther und Wasser extrahiert. Die ätherische Schicht wurde mit Wasser ausgeschüttelt, die wässrige ausgeäthert. Die nach dem Eindunsten der ätherischen Lösung verbliebenen Krystalle wurden aus heißem Alkohol umkrystallisiert. Der Rückstand wog 0,72 g und betrug somit 1,44% der angewendeten Substanz. Er wurde nochmals aus heißem Alkohol umkrystallisiert, worauf die Krystalle bei 130° schmolzen. Nach nochmaligem Umkrystallisieren war der Schmelzpunkt 132°. Ritter gibt als Schmelzpunkt des reinen Sitosterins 136,5° an. Die Krystalle gaben die Farbenreaktion mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure.

Ein so geringer Cholesteringehalt von ca. 1,5% kann

die Abweichung des gefundenen Phosphorgehaltes vom theoretischen Gehalt, wie er dem Lecithin zukommt, nicht bedingen.

Während gewöhnlich aus dem Rohpräparat durch Behandlung mit essigsauerm Methyl oder Aceton ein Präparat mit einem Phosphorgehalt von ca. 1,5% erhalten werden konnte, gab ein anderes auf dieselbe Art dargestelltes Rohpräparat bei obiger Behandlung ein Produkt, dessen Phosphorgehalt ca. 2,5% betrug. In der Folge konnte aus keiner Probe von Rohlecithin wieder ein Präparat mit so hohem Phosphorgehalt erhalten werden.

Diese Präparate, mit dem Phosphorgehalt von 2,5%, konnten wir durch Behandeln mit Lösungsmitteln nicht weiter in solche mit verschiedenem Phosphorgehalt zerlegen. Wir lösten z. B. 45 g von diesem Phosphatid unter Erwärmen in Alkohol. Die Lösung kühlten wir in einer Kältemischung ab und ließen sie einige Zeit stehen. Die Ausscheidung wurde durch Filtrationen von der Lösung getrennt. Das Präparat, das wir aus der Lösung gewannen, bezeichneten wir zum Unterschiede von dem, welches sich ausgeschieden hatte, als das leichter lösliche, das andere als das schwerer lösliche.

Eine Phosphorbestimmung im ersteren ergab 2,33%, im letzteren 2,58%. Es konnte also durch diese Trennung kein Präparat von höherem Phosphorgehalt erhalten werden.

Versuche zur Herstellung von reinem Lecithin durch Fällung mit Metallsalzlösung. Nachdem wir die Beobachtung gemacht hatten, daß eine Lösung unseres Präparates in absolutem Alkohol mit alkoholischen Metallsalzlösungen (HgJ_2 , HgCl_2 , CdCl_2 , Bleiacetat) Fällungen gab, wie eigentliches Lecithin, hofften wir durch Fällung der alkoholischen Lösung ein reines Lecithinpräparat zu erhalten.

Der vorhin erwähnte leichter lösliche Anteil des Phosphatids (22 g) wurde unter schwachem Erwärmen in möglichst wenig Alkohol gelöst, mit warmer, gesättigter, alkoholischer Chlorcadmiumlösung gefällt, die mit Alkohol gewaschene Fällung mit Ammoncarbonat verrieben und die Substanz durch Ausäthern gewonnen. Der im Vakuum getrocknete Rückstand wog 8,2 g oder 37% der angewendeten Substanzmenge und ent-

hielt 2,28% P, das Ausgangsmaterial 2,33% P. Auch aus dem Filtrat der Chlorcadmiumfällung stellten wir mittels Ammoncarbonat das Phosphatid wieder her. Eine Phosphorbestimmung darin ergab 2,21%. Der Unterschied von 0,1% P gegenüber dem Ausgangspräparat (2,3% P) ist wohl darauf zurückzuführen, daß das mit Hilfe von Ammoncarbonat aus dem eingedunsteten Filtrat gewonnene Präparat noch ein wenig Cadmium enthielt.

Denselben Versuch führten wir auch mit dem in Alkohol schwerer löslichen Teil aus.

Aus einer konzentrierten alkoholischen Lösung, welche 7,5 g enthielt, wurde mittels eines Überschusses an Chlorcadmium 1,8 g des Präparates gefällt (24% der angewendeten Substanzmenge). Der Phosphorgehalt der abgeschiedenen Substanz betrug 2,58%, war also gleich groß wie der des Ausgangsmaterials. Demnach muß auch der im Filtrat verbliebene Anteil denselben Phosphorgehalt besitzen. Das Ausgangspräparat enthielt 1,6% Stickstoff (vergleiche unten chemische Zusammensetzung des Phosphatids). Das aus der Chlorcadmiumfällung regenerierte Präparat enthielt 1,66% Stickstoff. Der Stickstoffgehalt war also derselbe geblieben. Auf diese Weise konnte also kein reines Lecithin erhalten werden.

Hätten die untersuchten Präparate eine größere Menge eigentliches Lecithin eingeschlossen, so hätte man wohl erwarten dürfen, durch die erwähnten Operationen reines Lecithin zur Abscheidung zu bringen. Es ist auffallend, daß die durch Chlorcadmium gefällte Substanz denselben Phosphor- und Stickstoffgehalt aufwies wie die nichtgefällte. Die Fällungen waren trotz eines Überschusses an Chlorcadmium unvollständig, was jedenfalls so zu deuten ist, daß das Phosphatid durch solche Metallsalzlösungen viel unvollständiger gefällt wird als gewöhnliches Lecithin. Dasselbe beobachteten wir bei der Fällung der alkoholischen Lösung unseres Präparates mit alkoholischem Platinchlorid, wobei wir zum Vergleich einen Parallelversuch mit Eierlecithin anstellten.

5,8 g eines Präparates, mit einem Phosphorgehalt von 2,6%, wurden in Alkohol gelöst, diese Lösung mit einer alkoholischen Platinchloridlösung versetzt und die entstandene

Fällung nach einigem Stehen auf ein getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, mit Alkohol etwas ausgewaschen und getrocknet. Die getrocknete Fällung wog nun 0,15 g, also nur 3,9% der angewendeten Substanzmenge. Bei einem mit Eierlecithin ausgeführten Versuch wurden unter gleichen Bedingungen 77,7% der angewendeten Substanz mit Platinchlorid gefällt. Platinchlorid gibt also nur eine unbedeutende Menge einer schwerlöslichen Doppelverbindung mit unserem Phosphatid und wir haben es daher unterlassen in dieser Richtung weitere Versuche anzustellen. Auch sehen wir hier davon ab, eine Anzahl weiterer Versuche anzuführen, welche alle den Zweck hatten, aus unserem Ausgangsmaterial ein reines Lecithinpräparat herzustellen, da alle Bemühungen bis jetzt erfolglos waren.

Physikalische Eigenschaften des Phosphatides.¹⁾ Das in eben beschriebener Weise aus Weizenmehl durch Behandeln des Ausgangsmaterials mit Aceton oder Methylacetat erhaltene Präparat, welches in den meisten Fällen einen Phosphorgehalt von 1,5—1,7% aufwies, ist eine hygroskopische, salbenartige, hellgelb bis hellbraun gefärbte Masse, welche beim Aufbewahren im Vakuum sich allmählich in eine harte, spröde und leicht pulverisierbare, beim Reiben elektrisch werdende Masse verwandelt. Das Präparat ist in frischem Zustand leicht löslich in Äther, Chloroform, Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, weniger leicht in Alkohol und Ligroin, in Methylessigester und Aceton ist es schwer löslich.

Beim Zusammenbringen mit Wasser quillt es darin auf und bildet die bekannten Myelinformen, wie beim Lecithin, mit viel Wasser bildet es eine kolloidale Lösung.

Das Präparat ist in alkoholischer oder alkoholisch-ätherischer Lösung optisch aktiv und zwar rechtsdrehend. 1,2 g eines Präparates, mit einem Phosphorgehalt von 1,5%, wurden in zwei Teilen Alkohol und einem Teil Äther zu 16 ccm gelöst; die anfänglich schwach getrübe Lösung wurde beim Stehen

¹⁾ Obgleich anzunehmen ist, daß die abgeschiedenen Präparate nicht einheitlicher Natur waren, so wollen wir doch einiges über die physikalischen Eigenschaften der in angegebener Weise isolierten Produkte angeben.

im Polarisationsrohr klar; die Drehung betrug im 200-Millimeterrohr im Soleil-Ventzkeschen Apparat $+6,5^\circ$. Daraus berechnet sich eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = +9,3^\circ$.

Da bei der Darstellung des für diesen Versuch verwendeten Präparates wiederholt erwärmt worden war, so kann eine partielle Racemisierung wohl eingetreten sein. Ulpiani gibt für reines Eierlecithin eine spezifische Drehung von $+11^\circ$ an. Wie weiter unten gezeigt wird, enthalten die untersuchten Präparate nicht unbedeutende Mengen von Kohlenhydraten und da sich eigentliches Lecithin beim Erwärmen leicht racemisiert, so ist es wohl denkbar, daß die optische Aktivität auf das Vorhandensein der aufgefundenen Kohlenhydratkomplexe zurückzuführen ist.

Chemische Eigenschaften. Die alkoholische Lösung unserer aus Weizenmehl dargestellten Präparate mit einem Phosphorgehalt von 1,5% zeigte folgendes Verhalten. Alkoholische Lösungen von Chlorcadmium, Platinchlorid, Bleiacetat erzeugen flockige, weiße, in Benzol lösliche, in Äther unlösliche Fällungen. Alkoholische Zink- und Zinnchlorürlösungen und Pikrinsäure geben keine Fällungen. Die wässrige Pseudolösung wird auf Zusatz von verdünnten Mineralsäuren ausgefällt, starke Basen erzeugen darin keine Fällungen, hingegen bewirkt Barytwasser eine starke flockige Fällung.

Beim Kochen der Präparate mit Barytlauge tritt Karamelgeruch auf; beim Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren erhält man eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit. Beim Erhitzen mit 12%iger Salzsäure tritt Geruch nach Furfurol auf; die entweichenden Dämpfe färben Anilinacetatpapier intensiv rot. Beim Kochen mit Phloroglucinsalzsäure erhält man eine rote Lösung, beim Kochen mit Orcin und Salzsäure tritt Grünfärbung auf; der grüne Farbstoff löst sich in Amylalkohol auf. Durch diese Reaktionen ist die Anwesenheit von Kohlenhydraten in den in absolutem Äther löslichen Präparaten nachgewiesen.

Chemische Zusammensetzung der Präparate. Der Phosphorgehalt schwankte zwischen 1,5—2,6%. Schwefel enthielten die untersuchten Präparate nicht. Der Stickstoffgehalt

schwankte zwischen 0,74—1,6%. Ein geringer Teil des Stickstoffs ist in Form von Ammoniak vorhanden. 10 g eines in absolutem Äther vollständig löslichen Präparates wurden mit ammoniakfreiem Wasser bei 40° einige Zeit digeriert, mit Kochsalz versetzt und die Emulsion, so gut es ging, von der Lösung durch Filtrationen getrennt; das nicht völlig klare Filtrat wurde im Vakuum bei einer 55° nicht übersteigenden Temperatur nach Zusatz von Magnesia zur Trockene eingedunstet, die übergehende Flüssigkeit in verdünnter Schwefelsäure aufgefangen, mit reiner Lauge neutralisiert und mit Nessler's Reagens versetzt, wobei eine starke rotbraune Fällung auftrat. Durch Behandeln der ätherischen Lösungen unserer Präparate mit viel Wasser gelang es uns, die kleinen Mengen Ammoniak zu entfernen. Der Ammoniakgehalt wurde durch Erhitzen einer Probe mit Magnesia und Wasser im Vakuum bei 40° bestimmt. 0,5399 g Substanz gaben 0,0012 g N = 0,22%. Stickstoff in Form von Ammoniak.

Dieses Ergebnis und andere Beobachtungen legen die Vermutung nahe, daß die kleinen Mengen von Ammoniak vielleicht infolge einer allmählichen Veränderung des Phosphatides entstanden sind. Wir können auch nicht behaupten, daß die durch Vakuumdestillation übergegangene Base nur allein als Ammoniak anzusprechen ist.

Es ergab sich, daß die aus verschiedenen Proben von Ausgangsmaterial hergestellten Präparate bezüglich des Stickstoffgehaltes beträchtliche Schwankungen aufwiesen. Es mögen hier einige Angaben über den Stickstoffgehalt einiger Präparate folgen:

Ein Präparat mit einem Phosphorgehalte von 1,55% enthielt 0,9% N. Ein anderes Präparat mit einem Phosphorgehalte von 1,53% enthielt 0,93% N. Ein Präparat mit einem Phosphorgehalte von 1,5% enthielt 1,06% N. Ein Präparat mit einem Phosphorgehalt von 1,55% enthielt 1,6% N. Ein Präparat mit einem Phosphorgehalt von 2,6% enthielt 1,6% N.

Angenommen nun, daß in dem Präparat mit einem Phosphorgehalt von 1,5% der Phosphor nur dem reinen Lecithin zukommt, so würde sich ein Stickstoffgehalt von 0,64% berechnen. Dieser Befund macht es wahrscheinlich, daß diese

Präparate neben Lecithin noch andere stickstoffhaltige Verbindungen einschließen können.

Es möge hier bemerkt werden, daß obige Angaben über den Stickstoffgehalt sich nur auf Präparate beziehen, die aus Cerealien — und zwar speziell aus Weizensamen dargestellt worden sind. Aus andern Pflanzensamen wurden, wie weiter unten ausgeführt werden soll, Phosphatidpräparate erhalten, deren Phosphorgehalt auch sehr niedrig war, bei welchen jedoch das Verhältnis P : N ungefähr mit demjenigen übereinstimmte, wie wir es im eigentlichen Lecithin vorfinden.

Bestimmung der Methylgruppen. Von den erwähnten Reaktionen verdient die Fällbarkeit der alkoholischen Lösung unseres Präparates durch alkoholische Bleiacetatlösung Beachtung; denn nach einigen Forschern soll Lecithin durch Bleiacetat nicht gefällt werden. Nach Koch sowohl als auch Thudichum soll aber Kephalin durch Bleiacetat gefällt werden. Da nach den Angaben Kochs sich in gewissen, aus Pflanzen dargestellten Lecithinpräparaten auch Kephalin vorfindet, vermuteten wir auch in unseren Präparaten das Vorhandensein dieser Substanz. Die Menge der Fällung mit Bleiacetat ist nicht unbedeutend; denn aus einer konzentrierten, 8 g enthaltenden, alkoholischen Lösung wurden 3,5 g des Präparates gefällt. Auch der Befund, daß in einem Phosphatidpräparat ein Platindoppelsalz einer Base erhalten wurde, dessen Pt-Gehalt größer als derjenige des Cholinplatinchlorids war, legte die Vermutung nahe, daß unsere Präparate neben Cholin wahrscheinlich noch eine methyllärmere Base einschlossen. Natürlich würde eine Beimengung eines dem Lecithin so ähnlichen Phosphatids den niedrigen Phosphorgehalt unseres Präparates allein nicht erklären. Immerhin war es interessant zu untersuchen, ob unser Präparat dieses «Stoffwechselprodukt» des Lecithins, wie Koch das Kephalin auffaßt, enthält.

Die Kochsche Methode des Nachweises von Kephalin beruht auf der Bestimmung der an Stickstoff gebundenen Methylgruppen und hat natürlich zur Voraussetzung, daß außer den dem Lecithin und dem Kephalin eigenen Basen keine anderen Komplexe vorkommen, die Methylgruppen an Stickstoff gebunden

enthalten. Bei der Bestimmung der Methylgruppen nach der Methode Herzig-Meyer, die Koch zuerst bei reinem Lecithin und bei einem Körper ausführte, den er seinem Verhalten nach als Kephalin bezeichnete, fand er, daß sämtliche an Stickstoff gebundene Methylgruppen im Kephalin unterhalb 240° abgespalten werden und daß bei dieser Temperatur nur ein Drittel der Methylmenge vom Lecithin abgespalten wird. Die übrigen zwei Drittel der an Stickstoff gebundenen Methylgruppen des Lecithins werden erst bei 300° losgelöst. W. Koch führte aber auch Methylbestimmungen bei Präparaten mit niederem Phosphorgehalte aus. Der niedere Phosphorgehalt unseres Präparates hat also, falls es oben erwähnter Voraussetzung genügt, keinen weiteren Einfluß.

Wir führten Bestimmungen der Methylgruppen nach der Methode Herzig-Meyer aus, die von Koch zuerst für solche Präparate angewendet worden ist. Das zu unserem Versuche verwendete Präparat hatte einen Phosphorgehalt von $1,53\%$ und einen Stickstoffgehalt von $0,93\%$. Durch Erhitzen mit Jodammon und Jodwasserstoff wird das an Stickstoff gebundene Methyl in Jodmethyl verwandelt, welches durch einen Kohlensäurestrom in eine alkoholische Silbernitratlösung geführt wird, und das abgeschiedene Jodsilber gewogen. Zuerst wurde auf einem Glycerinbad, welches später durch ein Sandbad ersetzt wurde, angeheizt. Nachdem die Gesamtmenge des bei 240° abspaltbaren Methyls losgelöst ist, läßt man den Apparat im Kohlensäurestrom erkalten und wägt die abgeschiedene Jodsilbermenge. Dann wird von neuem angeheizt und nun die bei 300° abspaltbare Methylmenge bestimmt.

1. Bestimmung unterhalb 240° . $0,305$ g gaben $0,078$ g Jodsilber. Nach Meyer entsprechen 100 Teile Jodsilber $6,38$ Teilen Methyl. 78 mg AgJ also $4,97$ mg CH_3 . Daraus berechnet sich ein Gehalt von $1,63\%$ CH_3 .

2. Bestimmung bei 240° . $0,3207$ g gaben $0,085$ g AgJ. Daraus berechnet sich ein Gehalt von $1,68\%$ CH_3 .

Nun wurde der ganze Apparat im CO_2 -Strome erkalten gelassen und darauf von neuem angeheizt. Die Silbernitratlösung blieb klar, bis die Temperatur im Sandbade ca. 320° betrug.

Dann fand plötzlich die Abscheidung von Jodsilber statt. Die Menge desselben betrug 0,080 g, woraus sich ein Gehalt von 1,59% bei 300° abspaltbares Methyl berechnet.

Bei den beiden Temperaturstufen wurde so lange erhitzt, bis die Jodsilberfällung sich absetzte und die Flüssigkeit klar wurde.

Da die verwendete Substanz 1,5% P enthält, enthielten 0,320 g derselben 0,0048 g P. Im Lecithinmolekül entsprechen einem Atom Phosphor 3 Methylgruppen oder 4,8 mg P würden 7,2 mg CH₃ entsprechen. Wir erhielten jedoch 4,79 mg CH₃, welches bei 240° abgespalten wurde und 5,12 mg bei 300° abspaltbares Methyl. Dem Phosphorgehalte des Präparates würde, wenn die abgespaltenen Methylgruppen lediglich von eigentlichem Lecithin herrühren, ein Methylgehalt von 2,2% entsprechen, er beträgt aber in Wirklichkeit 3,24%. Die Mengen der bei den verschiedenen Temperaturen abgespaltenen Methylgruppen sind folgende: unter 240° 1,65%, bei 300° 1,59%. Wenn die Gesamtmenge der abgespaltenen Methylreste nur aus eigentlichem Lecithin hervorgegangen wäre, so sollten unter 240° 0,7% und bei 300° 1,5% abgespalten worden sein. Durch diese Versuche konnte das Vorhandensein von Kephalin in unseren Präparaten nicht mit Sicherheit bewiesen werden.

Wie oben schon angegeben wurde, schlossen unsere Präparate Kohlenhydratkomplexe ein. Um festzustellen, ob die Kohlenhydrate nur beigemischt, oder in eigentlicher Bindung mit anderen organischen Komplexen vorliegen, stellten wir folgende Versuche an:

1,5 g eines in absolutem Äther vollständig löslichen Präparates wurden mit ca. 100 ccm Wasser digeriert, bis eine ganz gleichmäßige Emulsion entstanden war. Diese Emulsion wurde nach Zusatz von Kochsalz ausgeäthert und die eingeeengte wässrige Schicht in zwei Teile geteilt. Der eine Teil wurde mit etwas konzentrierter Salzsäure gekocht, wobei eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit erhalten wurde, aber auch ohne vorhergehendes Kochen des wässrigen Auszuges trat Reduktion der alkoholischen Kupfersulfatlösung ein.

Um nun festzustellen, ob durch die Behandlung mit Wasser der Kohlenhydratkomplex vollständig abgespalten werden kann,

wurde ein weiterer Versuch ausgeführt. Die ätherische Lösung von 2,4 g des Präparates wurde mit Wasser geschüttelt, die vom Wasser getrennte ätherische Schicht mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther abdestilliert. Der Destillationsrückstand in absolutem Äther nochmals aufgelöst, der Äther wieder abdestilliert. Ein Teil des nun verbliebenen Rückstandes gab beim Kochen mit Salzsäure eine Flüssigkeit, welche die Fehlingsche Lösung stark reduzierte. Der übrige Teil des Rückstandes wurde mit Wasser verrieben und die Emulsion ausgeäthert. Die dabei erhaltene wässerige Schicht reduzierte Fehlingsche Lösung stark. Die ätherische Lösung wurde in zwei gleiche Teile geteilt und eingedunstet. Der eine Teil wurde mit verdünnter Salzsäure gekocht und die vom unlöslichen Rückstand getrennte Flüssigkeit nach der Neutralisation mit Fehlingscher Lösung geprüft, wobei kräftige Reduktion eintrat. Der andere Teil wurde direkt mit Fehlingscher Lösung erwärmt, wobei eine allmähliche und nicht so intensive Reduktion eintrat, wie im ersten Fall.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse und im Hinblick auf die Tatsache, daß erst bei andauerndem Kochen mit verdünnten Mineralsäuren die ganze Kohlenhydratmenge losgelöst wird (siehe S. 303), glauben wir zunächst der Vermutung Raum zu geben, daß die von uns dargestellten Präparate die Kohlenhydrate in eigentlicher Bindung mit anderen Komplexen enthalten. Denn es gelang nicht, durch öfteres Umlösen in absolutem Äther ein Teil des Kohlenhydratkomplexes abzutrennen, und durch Behandeln mit Wasser konnten wir nur einen Teil der reduzierenden Substanzen gewinnen.

Quantitative Bestimmung der Kohlenhydrate. Um sich nun Aufschluß über die Mengen der in unseren Präparaten enthaltenen Kohlenhydrate zu verschaffen, verfahren wir wie folgt. Eine abgewogene Menge im Vakuum längere Zeit getrockneter Substanz, die im absoluten Äther vollständig löslich war, wurde mit einer abgemessenen Menge Salz- oder Schwefelsäure bekannter Konzentration eine bestimmte Zeit erhitzt; nach dem Erkalten wurde von der klaren Lösung ein aliquoter Teil abpipettiert, darin der Zucker durch Erhitzen mit Fehling-

scher Lösung in bekannter Weise bestimmt und als Dextrose berechnet. In den meisten Fällen wogen wir das abgeschiedene und getrocknete Kupferoxydul ohne vorhergehende Reduktion, da wir uns durch viele Versuche überzeugt hatten, daß bei der Reduktion des Oxyduls die berechenbare Menge Kupfer resultiert; die Abweichungen lagen in den meisten Fällen innerhalb der zulässigen analytischen Fehler.

Wir fanden, daß durch kurz andauernde Behandlung mit verdünnten Mineralsäuren nur ein Teil der vorhandenen Kohlenhydrate abgespalten wird; es wurde daher die übriggebliebene Flüssigkeit durch Zusatz von Säure auf die gleiche Konzentration gebracht, sodann weiter erhitzt und in einem aliquoten Teil der Flüssigkeit der Zucker wie angegeben bestimmt. Im folgenden geben wir die erhaltenen Resultate an.¹⁾

I. 2,2 g Substanz gaben beim Erhitzen mit 50 ccm 5%iger Schwefelsäure im Wasserbade nach einer Stunde 6,18%, nach zweistündigem Erhitzen 18,18% Zucker.

II. 2 g Substanz wurden mit der gleichen Menge 5%iger Schwefelsäure 3 Stunden ohne Unterbrechung im Wasserbade erhitzt. Wir erhielten 8,95% Zucker.

III. 1,4 g Substanz wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure 2 Stunden auf freier Flamme gekocht; aus der abgeschiedenen Kupferoxydulmenge berechnet sich ein Gehalt von 14,8% Zucker. Nach weiterem dreistündigen Kochen fanden wir noch 0,5%, so daß durch sechstündiges Kochen mit 5%iger Salzsäure 15,3% Zucker, berechnet als Dextrose, abgespalten werden.

IV. Durch fünfstündiges Kochen mit 5%iger Schwefelsäure wurden 16,65% Kohlenhydrat abgespalten.

V. Ein anderes Präparat, dessen Phosphorgehalt nur 1,05% betrug, gab bei fünfstündigem Kochen mit 5%iger Salzsäure 20,25% Zucker.

Quantitative Bestimmung der Pentosen. Es war nun eine weitere Aufgabe, die in unseren Präparaten enthaltenen Pentosenquantitäten zu ermitteln. Wir benützten die von Tollens angegebene Methode und fällten das beim Erhitzen mit Salzsäure übergehende Furfurol mit Phloroglucin aus.

¹⁾ Die Bestimmungen wurden doppelt ausgeführt.

4,23 g vakuumtrockener Substanz wurden mit 100 ccm 12%iger Salzsäure erhitzt, bis 30 ccm Flüssigkeit überdestilliert waren, sodann wurde der Kolbeninhalt auf das gleiche Volumen gebracht und so weiter verfahren, bis 180 ccm Destillat resultierten, das saure Destillat wurde mit Phloroglucinsalzsäure versetzt, worauf eine grüne Färbung eintrat, allmählich entstand eine rote Fällung, welche nach 12stündigem Stehen auf ein getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, mit etwas Wasser ausgewaschen, trocken gesogen und sodann im Wasserstoffstrom bei 100° getrocknet wurde. Die Menge des zinnoberroten Pulvers betrug 0,0374 g, daraus berechnet sich eine Menge von 0,5% Pentosen.

Die zinnoberrote Färbung des abgeschiedenen Phloroglucids beweist, daß beim Erhitzen mit Salzsäure Methylfurfurol gebildet wird; da aber das erhaltene Phloroglucid nicht vollständig in wässrigen Alkalien löslich war, so schloß das Kondensationsprodukt auch Furoolphloroglucid ein.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse darf man wohl behaupten, daß unsere Präparate neben Methylpentosen auch kleine Mengen von Pentosen einschlossen.¹⁾

Beim Erhitzen unserer Präparate mit 12%iger Salzsäure erhielten wir auch nach längerem Destillieren Flüssigkeiten, welche Anilinacetatpapier stark röteten, mit Phloroglucinsalzsäure aber kein unlösliches Kondensationsprodukt mehr lieferten. Für diese Beobachtung vermögen wir zurzeit noch keine Erklärung abzugeben.

Quantitative Bestimmung des Galaktoserestes. Da die Mengen der Pentosen im Vergleich zu den durch Kochen mit Säuren abspaltbaren Zuckermengen nur sehr gering war, suchten wir festzustellen, ob unsere Präparate auch Galaktosereste einschließen. 20 g Substanz wurden mit 5%iger Schwefelsäure 3 Stunden auf dem Sandbade gekocht: die schwach gefärbte Lösung durch Filtration von dem dunkelgefärbten schmierigen Rückstand getrennt, letzterer ausgewaschen, die vereinigten Flüssigkeiten wurden nun mit Hilfe von Baryt von der Schwefelsäure befreit und die vom Baryumsulfat getrennte Lösung bei

¹⁾ E. Votocek, Ber., Bd. XXX, S. 1195.

niederer Temperatur zum Sirup eingedunstet. Der Sirup wurde nun nach den Angaben von Tollens mit Salpetersäure ($d = 1,15$) oxydiert, in das Gemisch wurde eine Spur Schleimsäure eingetragen und einige Zeit stehen gelassen, wobei sich weiße sandige Krystalle ausschieden, welche auf ein gewogenes Filter gebracht, mit etwas Wasser ausgewaschen und gewogen wurden. Die Ausbeute betrug 0,76 g. Die Krystalle schmolzen bei 216° und lösten sich leicht in verdünnten Alkalien. Bei der Oxydation des Sirups war also Schleimsäure entstanden, was auf das Vorhandensein eines Galaktoserestes hindeutet. Da man nach den auf Seite 303 beschriebenen Versuchen aus 20 g des Präparates etwa 3,3 g Zucker abspalten kann, so berechnet sich aus der erhaltenen Schleimsäuremenge ein Gehalt von 30% Galaktose.¹⁾ Da der für diesen Oxydationsversuch verwendete Sirup neben Hexosen auch noch andere Verbindungen einschloß, kann man wohl nicht erwarten, daß die Oxydation so glatt verläuft, wie bei Anwendung reiner Galaktose, und es ist daher fraglich, ob man auch in unserem Falle zur Berechnung der vorhandenen Galaktosequantität aus der erhaltenen Schleimsäuremenge den von Tollens angegebenen Faktor $\frac{4}{3}$ benützen darf.

Jedenfalls aber beweist dieser Versuch das Vorhandensein von Galaktose; daß aber daneben sich noch andere Zuckerarten vorfinden, geht aus der relativ niederen Schleimsäureausbeute bei der Oxydation des Sirups hervor und ergibt sich ferner aus der Tatsache, daß wir beim Erhitzen eines in ähnlicher Weise erhaltenen zuckerhaltigen Sirups mit essigsauerm Phenylhydrazin ein Osazon erhielten, welches nach dem Umkrystallisieren bei 204° schmolz. Da nun das Galaktosazon nach Fischer bei $193-194$, das Glukosazon bei 205° schmilzt, so schloß der Sirup also wohl auch Glukose ein.

Spaltungsversuche mit dem Phosphatid aus Weizenmehl.

Obgleich es uns nicht gelungen war, aus unseren Ausgangspräparaten reines Lecithin abzuscheiden, ist es doch nicht

¹⁾ Bezogen auf die Gesamtmenge der vorhandenen Kohlenhydrate.

ausgeschlossen, daß unsere Präparate kleine Mengen eigentliches Lecithin enthalten; es ist ja denkbar, daß in Gemischen das Lecithin sich gegenüber den von uns verwendeten Fällungsmitteln und Lösungsmitteln anders verhält als reines Lecithin. Wir sind auf Grund der beschriebenen Versuche zur Ansicht gekommen, daß ein großer Teil der organischen Phosphorverbindung sich in eigentlicher Verbindung mit Kohlenhydratgruppen vorfindet und daß es noch vieler Versuche bedarf, um eine Trennung der einzelnen Konstituenten der von uns aus verschiedenen Pflanzensamen und pflanzlichen Objekten dargestellten phosphorhaltigen organischen Verbindungen herbeizuführen. Es schien uns zunächst angezeigt, sich noch weiteren Aufschluß über die bei der Spaltung unserer Präparate mit Säuren entstehenden Kohlenhydrate zu verschaffen und gleichzeitig die dabei gebildeten stickstoffhaltigen Verbindungen zu isolieren. Da uns eine größere Menge Ausgangsmaterial, welche aus Weizenmehl dargestellt worden war, zur Verfügung stand, haben wir die Versuche hauptsächlich bei diesen Präparaten ausgeführt. Über die bei der Spaltung erhaltenen Fettsäuren machen wir zunächst keine weiteren Angaben, da die Untersuchungen noch nicht beendet sind. Bezüglich einiger in dieser Richtung erzielten Ergebnisse verweisen wir auf die Dissertation von O. Hiestand. Wir haben verschiedene Spaltungsversuche ausgeführt und möchten nur diejenigen anführen, an welche sich spätere Untersuchungen anknüpfen sollen.

I. Spaltung mit Schwefelsäure. 40 g eines nicht vollständig trockenen Präparates wurden in absolutem Äther gelöst, von der Trübung abfiltriert, der Äther abdestilliert und der Rückstand sodann im Wasserstoffstrom bei 90° getrocknet; es verblieben nun 33,7 g Trockensubstanz, diese wurde mit 180 ccm 5%iger Schwefelsäure 5 Stunden am Rückflußkühler auf freier Flamme gekocht. Durch diese Behandlung erfolgte nicht nur eine Abspaltung der Kohlenhydrate, sondern auch eine vollständige Spaltung des Präparates; es resultiert nach dem Abkühlen eine schwach gefärbte Flüssigkeit und ein aus Fettsäuren und anderen noch nicht näher untersuchten Stoffen bestehender schmieriger Rückstand, welcher nur zum Teil in

Alkohol löslich war. Dieser Rückstand wurde im Scheidetrichter von der Flüssigkeit getrennt, einige Male im Scheidetrichter mit Wasser durchgeschüttelt, die gesamte Flüssigkeitsmenge betrug 362 ccm. In je 5 ccm dieser Flüssigkeit wurden 2 Zuckerbestimmungen mit Hilfe der Fehlingschen Lösung ausgeführt.

5 ccm gaben bei der Reduktion $0,1513 \text{ g Cu} = 0,0772 \text{ g Zucker}$. Die Gesamtmenge betrug somit 5,59 g oder 16,65%.

Durch weiteres Kochen wurde das Reduktionsvermögen der Flüssigkeit nicht vergrößert. Es ist beachtenswert, daß beim Erhitzen auf dem Wasserbade nur ca. 9% Zucker erhalten werden konnten. Dieser Befund spricht wohl auch dafür, daß die Kohlenhydrate nicht nur als mechanische Beimengungen vorhanden sind.

Die nach der Bestimmung des Reduktionsvermögens verbliebene Flüssigkeit wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt, die entstandene Fällung nach längerem Stehen von der Flüssigkeit durch Filtration getrennt, mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen und aus der Fällung in bekannter Weise die Basen mit Hilfe von Baryt in Freiheit gesetzt. Die vom überschüssigen Baryt mit Hilfe von Kohlensäure befreite Flüssigkeit wurde mit Salzsäure neutralisiert und eingedunstet. Beim Stehen im Vakuumexsikkator schieden sich 1,3 g farbloser Nadeln aus, die bis auf geringe Spuren von Baryumchlorid in absolutem Alkohol löslich waren. Die alkoholische Lösung wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt, die Fällung nach einigem Stehen durch Absaugen von der Flüssigkeit befreit, mit absolutem Alkohol wiederholt ausgewaschen und sodann aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Der Platiningehalt des Doppelsalzes betrug 32,1%.

0,1781 g Substanz gaben 0,0572 g Pt.

Die vom Phosphorwolframsäureniederschlag getrennte, stark sauer reagierende Flüssigkeit wurde zum Sieden erhitzt, mit Baryumhydroxyd von der Schwefelsäure und der überschüssigen Phosphorwolframsäure befreit und die vom Niederschlag getrennte Lösung zum Sirup eingedunstet. Dieser gab an Äther fast nichts ab, dagegen war ein Teil in 95%igem Alkohol löslich.

Eine Probe des Alkoholextraktes gab beim Verbrennen mit Soda und Salpeter Phosphorsäurereaktion. Das alkoholische Extrakt des Sirups ließen wir im Exsikkator verdunsten. Ferner wurde der zähe Rückstand des Sirups mit verdünnterem Alkohol gekocht und das Extrakt ebenfalls zur Krystallisation hingestellt. Der in verdünnterem Alkohol unlösliche Rückstand des Sirups löste sich fast vollständig in kaltem Wasser auf, diese Lösung gab mit Schwefelsäure eine starke weiße Fällung. Ferner gab eine Probe des Rückstandes beim Erhitzen mit saurem Kaliumsulfat intensiven Akroleingeruch; dieser Rückstand war sehr phosphorreich, er enthielt demnach wohl Baryumglycerophosphat. Trotz vieler Versuche war es nicht gelungen, aus den in Alkohol löslichen Massen einen krystallisierenden Zucker zu erhalten. Da das Zinksalz der Glycerinphosphorsäure krystallisiert, lösten wir einen Teil des in Alkohol unlöslichen Rückstandes vom Sirup in Wasser, versetzten die heiße Lösung mit Zinksulfatlösung, bis fast keine Fällung mehr entstand, und überließen das Filtrat der Krystallisation im Exsikkator.¹⁾

3. Spaltungsversuch. Bei dem vorhergehenden Versuche war es nicht gelungen, Zucker in krystallisierter Form zu erhalten. Wir spalteten nun eine größere Menge Phosphatid und isolierten den Zucker mit Hilfe von Benzylphenylhydrazin.

Wir verfahren wie folgt: 200 g des Phosphatides, von denen 100 g durch längere Acetonbehandlung, die andern 100 g durch andauernde Behandlung mit Essigester gewonnen worden waren, wurden, um das Material möglichst fein zu verteilen, mit Wasser durchgeknetet. Nach mehrstündigem Erwärmen auf 50° entstand eine homogene Emulsion, welche einige Tage stehen gelassen wurde. Um die durch diese Behandlung abgespaltene Kohlenhydratmenge zu bestimmen, wurde versucht, eine Probe zu filtrieren, was jedoch auch nach Verdünnen mit Wasser nicht möglich war. Schließlich wurde ein aliquoter Teil der Emulsion ausgeäthert und die Zuckermenge in der wässrigen Schicht bestimmt. 5 ccm gaben 0,028 g Kupfer = 0,015 g Zucker, oder da die Flüssigkeit 500 ccm betrug, waren 1,5% Zucker abgespalten worden. Das 4stündige Er-

¹⁾ Über dieses Zinksalz sollen weitere Mitteilungen folgen.

wärmen auf 50° hatte also denselben Effekt wie mehrmonatliches Stehen der wässerigen Emulsion, denn nach 3 $\frac{1}{2}$ monatlichem Stehen einer wässerigen Phosphatidemulsion derselben Herkunft, unter Zusatz von Antiseptica waren 1,33% Zucker herausgelöst worden. Wurde obige Emulsion nun 2 Stunden auf dem kochenden Wasserbade erhitzt, so erfuhr der Zuckergehalt der Flüssigkeit nur einen sehr kleinen Zuwachs. Es wurde nun so viel Schwefelsäure zugesetzt, daß die Flüssigkeit 3% davon enthielt, und dann 7 Stunden auf 50—60° erwärmt. Schon nach ganz kurzer Zeit verschwand die breiige Emulsion; am Boden der Kolben sammelten sich braune, zu größeren Flocken vereinigte Massen an, darüber schwamm eine klare, gelbe Flüssigkeit. In der einen Portion hatte sich unter dem Einfluß der warmen Schwefelsäure 5%, in der andern 6% Zucker gebildet.

Beide Portionen wurden nun 8 Stunden auf dem kochenden Wasserbad gehalten, worauf 5 ccm der einen Portion bei der Reduktion 0,257 g Kupfer gaben, daraus berechnet sich ein Gehalt von 13,3 g Zucker. 5 ccm der anderen Portion gaben 0,222 g Kupfer, woraus sich ein Gesamtzuckergehalt dieser Portion von 11,4 g berechnet. Die in Wasser unlöslichen, durch Filtration von den zuckerhaltigen Lösungen getrennten Rückstände wurden abermals mit 3%iger Schwefelsäure 8 Stunden im kochenden Wasserbade gehalten, worauf 5 ccm der 400 ccm betragenden Flüssigkeit bei der Reduktion 0,0664 g Kupfer = 0,034 g Zucker gaben, was einer Gesamtzuckermenge von 2,7 g entspricht. Es wurde bei diesem Versuche keine stärkere Säure verwendet und auch nicht auf freier Flamme gekocht, weil es uns daran gelegen war, die übrigen Spaltungsprodukte des Phosphatids in möglichst unveränderter Form zu gewinnen. Bei einem anderen Versuch war es merkwürdigerweise gelungen, aus dem Präparat unter ähnlichen Bedingungen beim Kochen mit 5%iger Schwefelsäure 5% Kohlenhydrat abzuspalten, ohne daß das Präparat im Aussehen und in den physikalischen Eigenschaften wesentlich verändert worden wäre.

Die bei dieser Spaltung erhaltenen zuckerhaltigen Flüssigkeiten wurden vereinigt; ihr Zuckergehalt betrug 27,4 g. Eine

kleine Menge Kohlenhydrat war noch in dem in Wasser unlöslichen Rückstand verblieben und konnte durch Auswaschen mit Wasser zum Teil entfernt werden. Die Gesamtmenge des abgespaltenen Kohlenhydrates war etwa 2% kleiner als bei früheren Versuchen, was wahrscheinlich damit zusammenhängt, daß die Spaltung nicht durch Kochen der Flüssigkeit vorgenommen worden war.

Im folgenden beschreiben wir nun diejenigen Versuche, welche mit der wässerigen Lösung angestellt wurden, in der Absicht, die Kohlenhydrate in reinem Zustand darzustellen. Es gelang uns, aus der wässerigen Lösung neben glycerinphosphorsaurem Baryum, Cholin auch reine Galaktose zu isolieren.

Die saure Lösung wurde mit chemisch-reinem Baryt neutralisiert und die vom Baryumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit auf dem Wasserbad vorsichtig zum Sirup eingedunstet. Dieser wurde oftmals mit warmem, 95%igem Alkohol extrahiert, das eingeeengte alkoholische Extrakt mit so viel 95%igem Alkohol versetzt, bis eine schwache Trübung eintrat, und die Flüssigkeit der Krystallisation im Exsikkator überlassen. Auch nach mehrmonatlichem Stehen hatten sich keine Krystalle ausgeschieden.

Daß aus dieser Lösung sich kein Zucker in krystallisiertem Zustande ausschied, ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Flüssigkeit eine Reihe verschiedener Substanzen einschloß. Es wurde $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ des durch Alkoholextraktion aus dem ursprünglichen Sirup gewonnenen Masse in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und mittels Phosphorwolframsäure von den Basen befreit. Das Filtrat von der Phosphorwolframsäurefällung wurde mit Baryt von den Säuren befreit und die von der Fällung getrennte Lösung eingedunstet. Der dadurch erhaltene Sirup wurde mehrmals mit warmem Alkohol extrahiert und das Extrakt im Exsikkator stehen gelassen. Auch hier gelang es nicht, trotzdem das Cholin entfernt war, krystallisierten Zucker zu erhalten.

Die Phosphorwolframsäureniederschläge wurden mit Baryt verrieben und das Cholin in bekannter Weise hergestellt. Da die Krystalle des salzsauren Cholins nicht einheitlicher Natur

waren und ihnen eine nicht unbedeutende Menge eines Sirups anhaftete, wurden die Krystalle durch nochmalige partielle Fällung mit Phosphorwolframsäure gereinigt. Aus der alkoholischen, salzsauren Lösung schieden sich nun feine Nadelchen aus. Die alkoholische Lösung derselben wurde mit alkoholischem Platinchlorid versetzt, das entstandene Doppelsalz aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert, zur Reinigung zwischen Filtrierpapier abgepreßt und zur Platinbestimmung benützt. Der Platingehalt war 31,7%. Die Theorie verlangt 31,87% Platin.

0,2805 g Substanz gaben 0,08900 g Platin.

Der durch Eindunsten der säurefreien Flüssigkeit gewonnene Sirup wurde, wie oben gesagt, mit 95%igem Alkohol in der Wärme extrahiert, dabei blieb ein unlöslicher, braun gefärbter Rückstand, welcher sich auch in verdünnterem Alkohol nicht auflöste und der folgendes Verhalten zeigte: Beim Erhitzen mit Kaliumbisulfat trat Akroleingeruch auf. Die Substanz löste sich in Wasser, die Lösung gab auf Zusatz von Schwefelsäure eine weiße Fällung. Da er phosphorhaltig war, schloß er wahrscheinlich glycerinphosphorsaures Baryum ein. Um dieses darzustellen, wurde die wässerige Lösung des Rückstandes mit Alkohol gefällt, die Fällung abfiltriert, wieder in Wasser gelöst und die Fällung mit Alkohol einige Male wiederholt. Eine Baryumbestimmung in dem bei 95° getrockneten Präparat ergab 39,5% Baryum, dieser Gehalt stimmt auf $C_3H_7O_6PBa + 2 H_2O$. 0,4882 g gaben 0,3275 g $BaSO_4 = 39,5\%$ Ba. Willstätter fand für ein bis 105° getrocknetes Präparat 43,42% Baryum, welche Zahl mit der theoretischen von $C_3H_7O_6PBa + \frac{1}{2} H_2O$ übereinstimmt. Wahrscheinlich schloß das analysierte Salz noch ein saures Salz ein. Nach den Angaben einiger Autoren ist das Baryumsalz zur Analyse nicht gut brauchbar, weil es oft saures Salz enthält.

Da es auch hier trotz vieler Versuche nicht gelungen war, einen Zucker in krystallisierter Form abzuscheiden, wurde versucht, die Zuckerarten unter Anwendung von Benzylphenylhydrazin von den anderen Beimengungen zu trennen. Wir verfahren behufs Darstellung des Hydrazons nach der von O. Ruff und G. Ollendorf angegebenen Methode.

Ungefähr die Hälfte des Zuckersirups, welcher durch Eindunsten des Alkoholextraktes aus dem durch Spaltung mit Schwefelsäure erhaltenen Sirup gewonnen worden war, wurde in 160 ccm 75%igem Alkohol gelöst. Nach einer in einem aliquoten Teil der Lösung ausgeführten Zuckerbestimmung enthielt diese Lösung 9,24 g Zucker. Zu dieser Lösung wurde eine alkoholische Lösung von 10 g α -Benzylphenylhydrazin zugesetzt, worauf nach einigem Stehen eine kleine Ausscheidung entstand, welche abfiltriert und getrocknet wurde; dieses Produkt schmolz bei 95°. Auf Zusatz von viel Wasser zum Filtrat trat eine weitere, ebenfalls bei 95° schmelzende Fällung auf. Aus einer heißen alkoholischen Lösung dieses Rohproduktes schied sich beim Stehen in einer Kältemischung ein bei 140° schmelzendes Produkt aus.

3,5 g des so durch Umkrystallisieren gereinigten Hydrazons wurden mit 9 ccm frisch destilliertem Formaldehyd auf dem Wasserbade erhitzt, wobei zuerst klare Lösung, dann allmählich eine Abscheidung eines schweren Öles, des Formaldehydhydrazons, erfolgte. Nach dem Abkühlen wurde letzteres durch Ausäthern entfernt, die wässrige Lösung, um den überschüssigen Formaldehyd auszutreiben, unter wiederholtem Zusatz von Wasser eingedunstet. Der Rückstand wurde behufs Entfernung von Met-aldehyd mit Alkohol extrahiert, die alkoholische Lösung der Krystallisation im Exsikkator überlassen, worauf sich der Zucker krystallinisch ausschied. Die stark gefärbten Krystalle konnten durch andauerndes Behandeln mit Tierkohle nicht entfärbt werden. Sie wurden wiederholt aus Wasser umkrystallisiert, durch Aufstreichen auf eine Tonplatte, Besprühen mit Alkohol und Äther und durch Stehenlassen im intensiven Sonnenlicht gelang es schließlich, die Krystalle soweit zu entfärben, daß sie für die Bestimmung des Drehungsvermögens benutzt werden konnten.

Eine Lösung, welche in 5,65 ccm 0,483 g Zucker enthielt, drehte im 100-Millimeterrohr im Soleil-Ventzkeschen Apparat $+ 19,83^\circ$. Daraus berechnet sich eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = + 80,03^\circ$. Diese Zahl stimmt fast genau mit derjenigen der Galaktose überein. Um sicher festzustellen, daß die für die Polarisation verwendete Zuckerart reine Galak-

tose war, dunsteten wir die gesamte zur Polarisation verwendete Lösung ein, fügten 6 ccm Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,15, engten auf 2 ccm ein, worauf eine weiße, krystallinische Ausscheidung entstand, deren Quantität 0,354 g betrug. Da nach Tollens bei der Oxydation der Galaktose 75—78% Schleimsäure entstehen können, so hätten wir höchstens 0,376 g erhalten können. Es sei noch bemerkt, daß der Schmelzpunkt der abgeschiedenen Schleimsäure bei 218° lag.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse dürfen wir behaupten, daß bei der Spaltung des aus Weizen darstellbaren Phosphatides Galaktose entsteht. Daß aber daneben auch noch Dextrose entsteht, beweist folgender Versuch: Wir erhitzten einen Teil des in oben beschriebener Weise durch Alkoholextraktion gewonnenen Syrups mit essigsauerm Phenylhydrazin auf dem Wasserbade eine halbe Stunde, trennten die ausgeschiedenen Krystalle von der Flüssigkeit, wuschen wiederholt mit Wasser und verdünntem Alkohol aus und kristallisierten wiederholt aus warmem, verdünntem Alkohol um. Wir erhielten so ein bei 204° schmelzendes Osazon; nach E. Fischer schmilzt das Glukosazon bei 205°.

Untersuchungen über die stickstoffhaltigen Bestandteile des Phosphatides. Bezüglich der stickstoffhaltigen, unbekanntenen Komponenten des Präparates möchten wir folgende Beobachtungen mitteilen.

Wie auf Seite 307 angegeben ist, erhielten wir einmal ein Platindoppelsalz, dessen Plattingehalt etwas höher war, als er sich für Cholinplatinchlorid berechnen läßt. Für diese Abweichungen führen wir zwei zulässige Erklärungen an.

Das Doppelsalz wurde beim Umkrystallisieren längere Zeit erhitzt, dabei konnte ein Teil des Cholins in Neurin übergegangen sein, welche Umwandlung sich nach Angaben einiger Forscher leicht vollziehen soll, ferner konnte der hohe Plattingehalt von einer Beimengung von Doppelsalzen anderer Basen herrühren. Thudichum und Koch haben aus dem Kephalin Basen erhalten, deren Platinsalze einen höheren Pt-Gehalt aufwiesen als das Cholinplatinchlorid. Daß aber außer Cholin noch andere Basen vorhanden sein können, haben wir durch Bestimmung der an Stickstoff gebundenen Methylgruppen wahr-

scheinlich gemacht. Wie oben erwähnt wurde, betrug die Menge der abgespaltenen Methylgruppen mehr, als dem im Präparate enthaltenen eigentlichen Lecithin entspricht. Unterhalb 240° wurden 3,3 mg oder ca. 30% der gesamten Methylmenge mehr abgespalten, und da dieser Überschuß von 30% bei 240° und nicht bei 300° abgespalten wurde, bei welcher letzterer Temperatur $\frac{2}{3}$ der Methylgruppen vom eigentlichen Lecithin losgelöst werden, kann dieser Überschuß an Methylgruppen von Basen herrühren, wie sie auch im Kephalin vorkommen sollen. Diese Base resp. Basen könnten an Glycerinphosphorsäure resp. Difettsäureglycerinphosphorsäure gebunden sein. In diesem Falle wäre also eine entsprechende Menge Cholin des Lecithins durch diese «Kephalinbasen» substituiert, und das Cholin könnte an andere unbekanntere Komplexe der Verbindung oder auch an das Kohlenhydrat gebunden sein. Wir konnten vorläufig nicht entscheiden, ob in der komplizierten Verbindung auch Kephalin vorkommt. Jedenfalls glauben wir wahrscheinlich gemacht zu haben, daß unser Phosphatid außer Cholin noch andere stickstoffhaltige Verbindungen enthält.

Einen weiteren Beleg für das Vorhandensein anderer stickstoffhaltiger Komplexe neben dem Cholin liefert folgender Versuch:

Eine Probe des Präparates wurde 4 Stunden mit 5%iger Schwefelsäure gekocht, der Rückstand durch Filtration von der Flüssigkeit getrennt, diese mit Phosphorwolframsäure gefällt, dann wurden Stickstoffbestimmungen in dem beim Kochen verbliebenen unlöslichen Rückstand, in der Phosphorwolframsäurefällung und im Filtrat von dieser Fällung ausgeführt. Wir erhielten dabei folgende Ergebnisse:

1. Angewendet 2,007 g Substanz. Die Stickstoffbestimmung im Phosphorwolframsäureniederschlag ergab 0,0079 g Stickstoff = 0,36% N.

2. Angewendet 2,1075 g Substanz. Die Stickstoffbestimmung im Phosphorwolframsäureniederschlag ergab 0,0083 g Stickstoff = 0,39% N.

3. Es wurde nun auch der Stickstoff im Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag und in dem nach dem Kochen

mit Schwefelsäure verbliebenen, unlöslichen Rückstand bestimmt. Angewendet 1,4 g Substanz.

a) Der Stickstoffgehalt des Phosphorwolframsäureniederschlages betrug $0,004804 \text{ g} = 0,42\%$, bezogen auf das im Vakuum getrocknete Präparat.

b) Der Stickstoffgehalt des Filtrates betrug $0,004276 \text{ g} = 0,37\%$.

c) Der Stickstoffgehalt des Rückstandes betrug $0,003560 \text{ g} = 0,31\%$.

Der Stickstoffgehalt des Präparates berechnet sich aus den 3 letzten Bestimmungen zu $1,1\%$.

Bei der Stickstoffbestimmung in dem für diesen Versuch verwendeten Präparat fanden wir $1,12\%$: die Übereinstimmung der Summe der drei Zahlen mit den bei der direkten Bestimmung erhaltenen ist also eine sehr gute. Wie nun aus den angegebenen Zahlen hervorgeht, ist nur ca. $\frac{1}{3}$ der in unserem Präparat vorhandenen Stickstoffbestimmungen durch Phosphorwolframsäure fällbar; da nun das Cholin durch das Fällungsmittel nahezu vollständig ausgefällt wird,¹⁾ so gelangen wir zur Ansicht, daß neben dem Cholin bei der Spaltung mit Säuren noch andere stickstoffhaltige Verbindungen entstehen, die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbar sind. Es sei daran erinnert, daß z. B. nach Salkowski das Neurin durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden soll.

Wir hoffen, durch weitere Untersuchungen noch Aufklärung über diese Verbindungen zu erhalten.

Phosphatid aus *Avena sativa*.

Die merkwürdige Zusammensetzung der aus Weizen darstellbaren phosphorhaltigen Präparate ließ es wünschenswert erscheinen, ein Phosphatid aus einem andern Cerealiensamen herzustellen und zu untersuchen. Es wurde für diesen Zweck aus Hafermehl ein Präparat hergestellt, in dem Hafergries zuerst möglichst entfettet und darauf mit warmem Alkohol extrahiert wurde. Der vom Alkohol durch Destillation befreite Rückstand

¹⁾ Wir behalten uns noch diesbezügliche Versuche vor.

wurde in Äther gelöst, der Äther abdestilliert und der Rückstand mit Aceton behandelt, wodurch ein Präparat mit einem Phosphorgehalt von 1,96% erhalten wurde.

Da durch Kochen des Präparates mit verdünnter Salzsäure eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit resultierte, wurde auch eine Kohlenhydratbestimmung ausgeführt. 1,22 g wurden mit 50 ccm 5% iger Salzsäure 4 Stunden auf freier Flamme gekocht, worauf 5 ccm der vom Rückstand getrennten Lösung bei der Reduktion 0,03696 g Kupfer = 0,0194 g Zucker gaben. Die Zuckermenge betrug somit 15,90%. Ein weiteres 3stündiges Kochen mit Salzsäure hatte eine Zuckerrückbildung von 0,91% zur Folge. Der Gesamtzuckergehalt betrug demnach 16,81%, also ungefähr so viel wie beim Weizenphosphatid.

Phosphatid aus *Lupinus albus*.

Da früher von E. Schulze und E. Winterstein aus Lupinsamen «Lecithine» von niederem Phosphorgehalt erhalten worden waren, war es interessant zu untersuchen, ob solche Präparate auch kohlenhydrathaltig sind.

70 kg Samen von *Lupinus albus* wurden 24 Stunden bei 50—60° getrocknet und dann gemahlen. Das gepulverte Material wurde nun weitere 24 Stunden bei 40° getrocknet. Der Rückstand, welcher 59,67 kg wog, wurde mit 300 g frisch gefälltem, getrocknetem Calciumcarbonat gemischt, um die Einwirkung von sauer reagierenden Stoffen bei der Extraktion auszuschließen. Nun wurde zuerst mit Äther, dann mit Alkohol extrahiert. Der Rückstand wog nach der Extraktion 52,41 kg.

Aus der alkoholischen Flüssigkeit, welche etwa 15 l betrug, schieden sich ca. 500 g einer salbenartigen Masse aus, welche wir als das in Alkohol schwer lösliche Phosphatid bezeichneten. Eine Probe desselben wurde in Äther gelöst, vom Unlöslichen durch Filtration getrennt; der Rückstand der Ätherlösung wurde mit Aceton in der Kälte und später damit auf dem Wasserbade digeriert, wobei nach längerem Digerieren eine fast weiße, körnige Masse erhalten wurde, deren Phosphorgehalt 2,7% betrug.

0,6385 g brauchten 15,9 ccm Molybdänlösung (1 ccm = 0,0025 g P_2O_5)
= 2,71 % P.

Eine Kontrollbestimmung nach der gewöhnlichen Molybdänmethode ergab 2,74 % P.

0,5754 g gaben 0,0566 g $Mg_2P_2O_7$ = 2,74 % P.

Durch Kochen einer Probe dieses Präparates mit Salzsäure wurde auch eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit erhalten. Eine Bestimmung des durch Säuren abspaltbaren Kohlenhydratkomplexes ergab folgendes:

1,69 g dieses Phosphatides wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure 3 Stunden gekocht. 10 ccm der vom Rückstand getrennten Flüssigkeit gaben bei der Reduktion 0,0453 g Kupfer = 0,0235 g Zucker, berechnet als Dextrose. Die zuckerhaltige Flüssigkeit betrug 64 ccm. Die abgespaltene Zuckermenge betrug demnach 8,92 %. Zum Rückstand wurde wieder 5%ige Salzsäure zugesetzt und nochmals 3 Stunden gekocht.

10 ccm der Flüssigkeit gaben bei der Reduktion 0,0444 g Kupfer = 0,023 g Zucker. Da die Flüssigkeit 66 ccm umfaßte, betrug die abgespaltene Zuckermenge 8,98 %. Durch weiteres Kochen des Rückstandes mit Säure wurde keine reduzierende Substanz mehr abgespalten. Die Gesamtmenge des durch 6stündiges Kochen mit 5%iger Salzsäure abspaltbaren Kohlenhydratkomplexes betrug somit 17,9 %.

Der Stickstoffgehalt des für diese Versuche verwendeten Präparates betrug 1,1 %.

Hier liegen die Verhältnisse anders als beim Phosphatid aus Weizen. Der Stickstoffgehalt entspricht also ungefähr derjenigen Stickstoffmenge, die sich aus dem Phosphorgehalt des Präparates berechnen läßt, wenn man annimmt, daß der Phosphor einem gewöhnlichen Lecithin zukommt. Der Unterschied ist besonders auffallend gegenüber dem 2,6 % Phosphor enthaltenden Phosphatid aus Weizenmehl, welches also ungefähr denselben Phosphorgehalt wie das aus *Lupinus albus* gewonnene Präparat aufwies, hingegen einen ca. 30 % höheren Stickstoffgehalt besaß. Es müssen also in dem aus Weizen darstellbaren Phosphatid neben dem durch Säuren abspaltbaren Kohlenhydrat noch andere stickstofffreie und stickstoffhaltige Komplexe vorhanden sein.

Es war nun eine weitere Aufgabe, das in Alkohol leicht lösliche Phosphatid zu untersuchen. Wir verfahren dabei wie folgt: Der Alkohol wurde zum größten Teil auf dem Wasserbade, der Rest sodann im Vakuum bei 40° abdestilliert, wobei ein salbenartiger, brauner Rückstand, dessen Gewicht 1180 g betrug, zurückblieb. Ein Teil dieses Präparates wurde in Äther gelöst, von einer geringen Menge Unlöslichen abgetrennt, der Äther abdestilliert und der Rückstand untersucht. Er enthielt 1,6% Phosphor.

0,6192 g brauchten 9,1 ccm Molybdänlösung = 1,60% P.

0,4136 „ „ „ 6,12 „ „ = 1,61% P.

Wurde dieser Rückstand in früher angegebener Weise mit Aceton behandelt, so wurde ein Präparat mit 2,63% Phosphor erhalten; also ungefähr der gleiche P-Gehalt, wie derjenige des im Alkohol schwer löslichen Rohphosphatides.

0,54925 g brauchten 13,27 ccm Molybdänlösung.

Auch dieses Präparat war kohlenhydrathaltig. 3,3 g desselben wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure 5 Stunden gekocht. 2 ccm der vom Rückstand getrennten Flüssigkeit gaben bei der Reduktion 0,0299 g Kupfer = 0,016 g Traubenzucker. Die Flüssigkeit betrug 53 ccm (einschließlich das Waschwasser). Es waren also 12,85% der Substanz in Form von Zucker abgespalten worden.

Es wurde nun versucht, sich einigen Aufschluß über die Natur der in diesem Phosphatid vorhandenen Kohlenhydrate zu verschaffen. Da beim Kochen mit Salzsäure Geruch und Furfurol auftrat und die Dämpfe Anilinacetatpapier stark röteten, darf man die Anwesenheit von Pentosen annehmen.

200 g von dem in Alkohol leichter löslichen Rohphosphatid wurden in Äther gelöst, von der Trübung abfiltriert, der Äther abdestilliert und der Rückstand mit Aceton behandelt. Nach öfterem Digerieren blieb ein Rückstand von 100 g, der mit 350 ccm 5%iger Schwefelsäure 8 Stunden auf freier Flamme gekocht wurde. Nachdem die Masse abgekühlt war, wurde der dabei verbliebene Rückstand durch Filtration von der Flüssigkeit getrennt. Es war auffällig, daß nur ein sehr kleiner Rückstand zurückblieb. Die von der Schwefelsäure mit Baryt be-

freie Flüssigkeit wurde nach Entfernung des Baryumsulfats eingeengt, die Flüssigkeit ausgeäthert, wobei nur wenig Substanz in den Äther überging, nun wurde zum Sirup eingedunstet. Von diesem Sirup wurden 18 g, welche nur 3 g Zucker enthielten, zur Oxydation mit Salpetersäure verwendet. Es wurden 30 ccm dieser Säure ($D = 1,15$) zugesetzt und auf $\frac{1}{3}$ des Volumens eingedunstet.

Trotz vieler Versuche war es uns nicht gelungen, aus dem bei der Oxydation erhaltenen Gemisch Schleimsäure vom richtigen Schmelzpunkt abzuscheiden. Es bedarf noch weiterer Versuche, um Aufschluß über die Kohlenhydrate und die anderen Komponenten der Phosphatide aus Samen zu erhalten.

Phosphatid aus *Lupinus luteus*.

Die Darstellung geschah in der gleichen Weise durch Extraktion des sorgfältig entfetteten Samenpulvers mit absolutem Alkohol bei 50° . Der nach dem Abdestillieren des Alkohols verbliebene Rückstand wurde in Äther gelöst und mit Wasser einige Male durchgeschüttelt, die ätherische Lösung sodann mit Natriumsulfat getrocknet und der Destillation unterworfen, es hinterblieb ein hellgelb gefärbter Sirup. Dieser wurde auf die durch Säure abspaltbare Menge von Kohlenhydrat untersucht. Er lieferte nach 5stündigem Kochen mit 3%iger Schwefelsäure nur 1,1% Zucker.

Da Lecithin mit Kohlenhydraten leicht Verbindungen eingeht, mußte man sich die Frage vorlegen, ob das kohlenhydrathaltige Phosphatid, welches durch Alkoholextraktion gewonnen werden kann, primär in den Objekten vorkommt, oder ob es erst bei der Alkoholextraktion aus Glukosen und Lecithin entsteht.

Um obige Frage zu entscheiden, wurden 700 g fein pulverisierte trockene Samen von *Lupinus luteus* so lange mit Wasser ausgewaschen, bis eine große Menge filtrierten Waschwassers beim Kochen mit Fehlingscher Lösung keine Reduktion mehr gab, wozu ungefähr 35 l Wasser notwendig waren.

Das Material wurde hierauf abgepreßt und der noch feuchte Rückstand, um das Wasser möglichst zu entfernen, 10 Stunden in 85%igem Alkohol stehen gelassen. Nun wurde wieder ab-

gepreßt, der Rückstand dreimal je $\frac{1}{2}$ Stunde mit 95%igem Alkohol ausgekocht. Die durch Filtration vom Rückstand getrennten alkoholischen Lösungen wurden eingedunstet, der Rückstand in Äther gelöst und die ätherische Lösung mit Wasser ausgeschüttelt. Die mit Natriumsulfat getrocknete ätherische Schicht wurde eingedunstet und der Rückstand, der nach seinen physikalischen Eigenschaften dem aus *Lupinus albus* dargestellten Rohpräparat gleich, wurde mit verdünnter Salzsäure gekocht, worauf eine die Fehlingsche Lösung stark reduzierende Flüssigkeit entstand. Die wässrige Schicht enthielt aber auch Spuren reduzierender Substanzen. Die nach dem zweiten Abpressen erhaltene alkoholische Lösung wurde der Destillation unterworfen, die zurückgebliebene wässrige Flüssigkeit mit Äther extrahiert, wobei eine Substanz resultierte, die beim Kochen mit Salzsäure eine die Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit gab.

Auch an einem andern Objekte haben wir einen Versuch mit gleichem Ergebnis angestellt. Auf Grund dieser Befunde und im Hinblick darauf, daß durch Ätherextraktion allein aus manchen Objekten ein kohlenhydrathaltiges Phosphatid erhalten werden kann, darf man wohl annehmen, daß diese Verbindungen primär vorkommen. Zur Entscheidung dieser Frage sind noch weitere Versuche im Gange.

Aus den mitgeteilten Versuchsergebnissen ist zu ersehen, daß die Samen verschiedener Pflanzenfamilien eine eigentümliche organische Phosphorverbindung enthalten.

Die in Äther und Alkohol löslichen Phosphorverbindungen enthalten als Komponenten verschiedene Hexosen und Pentosen und zwar in eigentlicher chemischer Bindung, denn es gelingt erst durch längeres Kochen mit Mineralsäuren die Zuckerarten vollständig abzuspalten. Die Verbindungen der Kohlenhydrate mit dem eigentlichen Lecithin zeigen ein ganz anderes Verhalten.

Wir haben mehrere solcher Kohlenhydratlecithinverbindungen dargestellt, indem wir Eierlecithin in alkoholischer, ätherischer oder in Benzollösung mit verschiedenen Hexosen und Disacchariden einige Zeit auf dem Wasserbade erhitzten.

aus diesen, mit Hilfe von absolutem Äther isolierten Produkten wurde durch kurzes Kochen mit verdünnter Mineralsäure die Glukose vollständig abgespalten.

Phosphatid aus *Vicia sativa*.

Das Präparat wurde in gleicher Weise wie bei den anderen Materialien aus dem entfetteten Samenpulver gewonnen. Das nach dem Verdunsten des Alkohols verbliebene Präparat wurde in Äther gelöst und diese Lösung wiederholt mit Wasser durchgeschüttelt, die ätherische Lösung wurde nun mit Natriumsulfat getrocknet, der Äther abgedunstet. Das Präparat war vollständig löslich in absolutem Äther. 1,1 g wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure 3 Stunden gekocht, dabei wurden 3,5% Zucker (berechnet als Dextrose) erhalten. Der Rest des Präparates, 1,1 g, wurde nun wieder in Äther gelöst und dreimal mit Wasser durchgeschüttelt. Das erste Extrakt enthielt nur Spuren, das zweite enthielt 2 mg und das dritte Extrakt ca. 7 mg Zucker, wobei allerdings zu bedenken ist, daß sich ein Teil des Phosphatides im Wasser selbst auflöst. Durch wiederholtes Behandeln mit Wasser kann also das Kohlenhydrat nicht von den anderen Resten losgelöst werden. Die ätherische Lösung enthielt noch 0,725 g Phosphatid, welches beim Kochen mit 5%iger Salzsäure 3,16% Zucker gab.

Phosphatid aus *Pinus cembra*.

Das erhaltene Präparat gab beim Kochen mit Säuren eine Lösung, welche beim Kochen mit Fehlingscher Flüssigkeit nur minimale Spuren von Kupferoxydul ausschied.

Phosphatid aus *Picea excelsa*.

Das durch Extraktion mit Alkohol erhaltene und mit Wasser gereinigte Präparat gab beim Kochen mit Schwefelsäure 2,07% Zucker, berechnet als Dextrose.

Phosphatid aus Kartoffelknollen.

Wir untersuchten nun auch ein anderes pflanzliches Organ, welches größere Mengen Reservestoff enthält, auf das Vorhandensein eines solchen Phosphatides. Wir verwendeten Kartoffelmehl, welches uns von den Tätosinwerken Fiddichow

in gemahlenem Zustande in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt wurde.

3 kg des trockenen Kartoffelmehles wurden mit 95%igem Alkohol extrahiert, der Rückstand des Alkoholextraktes mit Äther aufgenommen, die filtrierte ätherische Lösung eingedunstet, der Rückstand war in absolutem Äther vollständig löslich. Auch dieses Präparat war kohlenhydrathaltig.

1,97 g wurden 8 Stunden mit 5%iger Salzsäure gekocht. 10 ccm der 55 ccm betragenden, vom Rückstand getrennten Flüssigkeit gaben bei der Reduktion 0,0458 g Kupfer = 0,0238 g Zucker. Die Flüssigkeit enthielt demnach 0,1309 g oder 6,64% Zucker. Der Rückstand wurde nun abermals mit Salzsäure 3 Stunden gekocht, worauf die vom Rückstand getrennte Flüssigkeit bei der Reduktion 0,0112 g Kupfer = 0,0067 g Zucker = 0,34% Zucker gab. Die Gesamtmenge des abspaltbaren Kohlenhydrates betrug demnach 6,98%. Eine Phosphorbestimmung in diesem Präparat gab 1,61% P.

0,4724 g brauchten 7 ccm Molybdänlösung, 1 ccm = 0,0025 g P_2O_5 . Während der Phosphorgehalt dieses Präparates mit dem aus Cerealien erhaltenen Phosphatide ungefähr übereinstimmt, ist der Gehalt an den durch Säuren abspaltbaren Kohlenhydraten bei diesem Präparat viel kleiner.

Phosphatide aus Pollen.

Da es uns daran gelegen war, möglichst verschiedene pflanzliche Organe bezüglich der daraus herstellbaren Phosphatide zu untersuchen, wurden auch Präparate aus Pollen gewonnen. Zur Untersuchung gelangten Pollen der Grün-Erle (*Alnus viridis* Dec.) und Bergföhre (*Pinus montana* Mill.).

Die Pollenkörner lassen sich wegen der derben Hüllen, von denen sie umgeben sind, nur schwer extrahieren. Sie wurden deshalb teils im Mörser zerquetscht, teils in einer hiesigen Fabrik fein gemahlen.

Wie folgende Versuche zeigen, enthalten auch die Pollen kohlenhydrathaltiges Phosphatid.

573 g bei 40° getrockneter Erlenpollen wurden 50 Stunden ununterbrochen extrahiert. Die Menge der durch Äther extra-

hierbaren Substanz betrug 45,7 g. Diese Substanz enthielt 0,44% P.

0,6393 g brauchten 2,3 ccm Molybdänlösung = 0,39% P.

0,6775 „ „ 3,06 „ „ = 0,49% „

Aus dem Phosphorgehalt dieses Ätherextraktes würde sich, wenn wir den Phosphorgehalt des eigentlichen Lecithins zu 4% annehmen, ein Lecithingehalt des Ätherextraktes von ca. 5,7 g ergeben. Durch längere Behandlung mit Aceton erhielten wir aus dem Ätherextrakt ein Phosphatid, dessen Phosphorgehalt 1,01% betrug.

0,5926 g Substanz brauchten 5,5 ccm Molybdänlösung.

1,65 g dieses Präparates wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure 2 $\frac{1}{2}$ Stunden gekocht, worauf 10 ccm des Filtrates bei der Reduktion 0,0202 g Kupfer = 0,0111 g Zucker gaben. Es waren demnach 3,4% Zucker abgespalten worden.

Die mit Äther behandelten Pollen wurden nun 8 mal mit größeren Mengen 95%igen Alkohols ausgekocht. Diese Operation mußte so oft wiederholt werden, weil die Rückstände des Alkohol-extraktes immer noch phosphorhaltig waren. Offenbar wurden die Membranen erst nach längerem Kochen mit Alkohol gesprengt, so daß die Stoffe in Lösung gehen konnten. Die vereinigten, durch achtmalige Extraktion gewonnenen alkoholischen Flüssigkeiten wurden der Destillation unterworfen und der Destillationsrückstand mit Äther ausgezogen, wobei die größte Menge des Phosphatides in Lösung ging, der in Äther unlösliche Teil enthielt nur kleine Mengen Phosphor. Die ätherische Lösung wurde durch Destillation vom Äther befreit und in einem Teil der verbliebenen Substanz der Phosphorgehalt bestimmt. Wir fanden 1,44%.

0,5401 g brauchten 7,2 ccm Molybdänlösung.

Da dieses Präparat ungefähr denselben Phosphorgehalt aufwies wie das Phosphatid aus Cerealien, so war es interessant, dasselbe auf Kohlenhydratgehalt zu untersuchen. 1,61 g dieses Präparates wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure gekocht, worauf 5 ccm der vom Rückstand getrennten Flüssigkeit bei der Reduktion 0,0391 g Kupfer = 0,02045 g Zucker gaben. Die abgespaltene Zuckermenge betrug also 14,93%.

Die Erlenpollen gaben also ein Präparat, welches im

Phosphor- und Kohlenhydratgehalt mit demjenigen aus Cerealien ziemlich übereinstimmte. Wie an der Furfurolreaktion erkannt wurde, enthielt es auch Pentosen.

Der in Äther lösliche Anteil der durch Alkohol aus den Pollen in Lösung gegangenen Substanz enthielt, unter der Annahme, daß eigentliches Lecithin in der komplizierten Verbindung vorhanden ist, 13,25 g Lecithin. Die Gesamtmenge des «Lecithins» der Pollen würde demnach $13,25 + 5,7$ g betragen oder 3,31%, berechnet auf die bei 40° getrockneten Pollen. Die Pollen sind also reich an phosphorhaltiger, organischer Substanz.

Unter den Spaltungsprodukten des Phosphatides aus Erlenpollen wurde Cholin nachgewiesen, indem das bei der Spaltung mit Schwefelsäure erhaltene Filtrat mit Phosphorwolframsäure gefällt und aus der Fällung die Base hergestellt wurde. Die Lösung derselben gab die charakteristischen Reaktionen mit Kaliumwismutjodid, Jodjodkalium, Phosphormolybdänsäure.

Phosphatid aus Föhrenpollen.

530 g bei 40° getrockneter Föhrenpollen wurden 70 Stunden mit Äther extrahiert. Eine Probe des nach Abdunsten des Äthers verbliebenen Rückstandes, welcher ungefähr dieselbe Phosphormenge enthielt wie der aus den Erlenpollen erhaltene, wurde in absolutem Äther gelöst: die filtrierte, absolut ätherische Lösung enthielt auch ein kohlenhydrathaltiges Phosphatid.

Da wir bei der Ätherextraktion der Erlenpollen die Beobachtung gemacht hatten, daß die Wandungen der Pollenkörner erst durch längeres Kochen mit Alkohol zerstört werden, wurden die mit Äther behandelten Föhrenpollen einige Tage mit Alkohol gekocht. Vom eingedunsteten Alkoholextrakt war nur ein kleiner Teil ätherlöslich. Der ätherlösliche Anteil des durch Alkoholextraktion gewonnenen Produktes enthielt 1,72% Phosphor.

0,487 g brauchten 7,7 ccm Molybdänlösung.

Eine Zuckerbestimmung in diesem Präparat ergab 6,9%, wie aus folgendem ersichtlich: 0,93 g wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure 3 Stunden gekocht. 5 ccm der nach dem

Kochen 48 ccm betragenden Flüssigkeit gaben bei der Reduktion 0,0096 g Kupfer = 0,0061 g Zucker. Es wurden somit 6,2% Zucker abgespalten. Ein weiteres 3 stündiges Kochen des Rückstandes mit Salzsäure ergab eine Flüssigkeit, die bei der Reduktion 0,0105 g Kupfer = 0,0061 g Zucker gab, welche Menge 0,66% der verwendeten Substanz beträgt. Die salzsaure Flüssigkeit gab auf Zusatz von Phosphorwolframsäure eine starke weiße Fällung, die wahrscheinlich auf Cholin zurückzuführen ist.

Phosphatidpräparate aus Pilzen.

Von E. Schulze und S. Frankfurt und von E. Winterstein und J. Hofmann sind Lecithinpräparate aus Pilzen erhalten worden, welche beim Kochen mit Baryt die bekannten Spaltungsprodukte des Lecithins lieferten.

Es war zu untersuchen, ob auch Präparate aus Pilzen kohlenhydrathaltig sind.

1 kg an der Luft getrockneter Steinpilze (*Boletus edulis*) wurde 24 Stunden im Trockenschrank bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur getrocknet, dann mit Äther gut entfettet, mit Alkohol extrahiert, der Alkohol abdestilliert und der Rückstand in Äther gelöst, wobei eine große Menge von Mannit und Kohlenhydraten zurückblieb. Die ätherische Lösung wurde öfters mit Wasser geschüttelt, mit Chlorcalcium getrocknet, eingedunstet, in absolutem Äther gelöst und von einem kleinen Rückstand abfiltriert. Es resultierte eine dunkelbraun gefärbte, fettartige Masse, die 0,97% Phosphor enthielt. 0,7147 g brauchten 6,4 ccm Molybdänlösung.

6 stündiges Kochen von 2,05 g des Präparates mit 50 ccm 5%iger Salzsäure gab eine Flüssigkeit, die 2,48% Zucker enthielt. 10 ccm der 52 ccm betragenden Flüssigkeit gaben bei der Reduktion 0,0176 g Kupfer = 0,0098 g Zucker.

Die salzsaure, zuckerhaltige Flüssigkeit gab mit Phosphorwolframsäure eine weiße Fällung, die wahrscheinlich von Cholin herrührte.

Aus *Cantharellus cibarius* konnte ein ähnliches Präparat erhalten werden, dessen Phosphor- und Kohlenhydratgehalt jedoch niedriger war.

Phosphatidpräparate aus Blättern.

Wie in der Einleitung schon erwähnt wurde, haben wir uns auch mit den Phosphatiden grüner pflanzlicher Organe beschäftigt. Obwohl es uns bis jetzt noch nicht gelungen, einheitliche Substanzen dieser Art aus grünen Pflanzenorganen darzustellen und die Phosphatide von den anhaftenden Farbstoffen zu befreien, möchten wir doch hier schon auf einige Befunde hinweisen.

Es wurden Kastanienblätter (*Aesculus hippocastanum*) zur Blütezeit vom 10.—20. Mai 1905 gesammelt und zunächst durch Ausbreiten an der Luft, nachher bei 50° getrocknet. Die dünnen Blätter wurden durch Zerreiben von den Stielen und Nerven möglichst befreit, da die letzteren nach J. Stoklasa weniger «Lecithin» enthalten. Das Material wurde nun fein gemahlen: 2900 g dieses Pulvers, welches von 14,5 kg feuchten Blättern herrührte, wurden 60 Stunden mit Äther und der Rückstand einige Male mit Alkohol in der Wärme extrahiert. Sowohl der nach dem Abdestillieren des Äthers als auch der nach Entfernen des Alkohols verbliebene Rückstand waren phosphorhaltig. Es war uns nicht gelungen, mit Hilfe von Aceton eine Trennung der einzelnen Bestandteile des Präparates zu erzielen, da das Präparat sich in Aceton relativ leicht auflöste.

Es wurde der Rückstand des Alkoholextraktes in Äther gelöst, und diese ätherische Lösung mit der durch direkte Extraktion mit Äther gewonnenen Flüssigkeit vereinigt. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde ein Teil des Rückstandes mit Säure gekocht und filtriert. Das Filtrat reduzierte Fehlingsche Lösung stark. Durch Kneten des Präparates mit Wasser ging wie auch beim Cerealienphosphatid ein kleiner Teil des Kohlenhydrates in Lösung. Auch beim Erwärmen auf dem Wasserbad wurde eine kleine Menge Kohlenhydrat abgespalten.

2,58 g des Präparates aus dem vereinigten Ätheralkohol-extrakt wurden mit 50 ccm 5%iger Salzsäure 3 Stunden gekocht, worauf 5 ccm der vom Rückstand getrennten Flüssigkeit bei der Reduktion 0,0316 g Kupfer = 0,01653 g Zucker gaben. Die Flüssigkeit enthielt 7,2% Zucker, bezogen auf 2,58 g des

Ausgangspräparates. Der auf dem Filter verbliebene Rückstand wurde abermals mit Salzsäure gekocht. Die dabei erhaltene, vom Rückstand wieder durch Filtration getrennte Flüssigkeit gab bei der Reduktion 0,07548 g Kupfer = 0,0385 g Zucker = 1,69%. Ein weiteres 3 stündiges Kochen mit 5%iger Salzsäure hatte eine Zuckerabspaltung von 0,64% zur Folge.

Das für die soeben beschriebenen Versuche verwendete Präparat enthielt 0,37% Phosphor.

0,8719 g brauchten 3 ccm Molybdärlösung. 1 ccm = 0,0025 g P_2O_5 .

Zur Identifizierung des Kohlenhydrates wurden 100 g der in oben angegebener Weise erhaltenen phosphorhaltigen Substanz, um den Zucker abzuspalten, mit 5%iger Schwefelsäure gekocht. Nach 6stündigem Kochen enthielt die Flüssigkeit 6,37 g Zucker. Ein nochmaliges 3 stündiges Kochen bewirkte eine weitere Abspaltung von 2,2 g. Es wurde also etwas weniger Zucker als beim quantitativen Versuch erhalten. Bei größeren Mengen Material wird wohl ein Teil von den entstandenen Spaltungsprodukten eingehüllt und entgeht der Zersetzung. Es wurde die Schwefelsäure mittels Baryt entfernt und das Filtrat eingedunstet. Ein Teil des dabei verbliebenen Rückstandes wurde mit 95%igem warmen Alkohol extrahiert, das Extrakt hinterließ einen Rückstand von 3,31 g, welcher 1 g Zucker enthielt. 7,7 g des Rückstandes, welche durch Extraktion des Sirups mit Alkohol gewonnen, wurden mit 30 ccm Salpetersäure ($D = 1,15$) oxydiert, es erfolgte nach einigem Stehen eine weiße krystallinische Ausscheidung, die 0,14 g wog. Der Schmelzpunkt dieser Krystalle lag bei 216° und stimmte genau mit dem Schmelzpunkt eines Schleimsäurepräparates aus unserer Sammlung überein. Die erhaltene Schleimsäure wurde in verdünnter Natronlauge gelöst und aus dem Filtrat durch Ansäuern mit Salpetersäure wieder zur Abscheidung gebracht; ihr Schmelzpunkt lag wieder bei 216° . Das Filtrat von der Schleimsäureausscheidung wurde mit Pottasche neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert, worauf sich nach längerem Stehen eine weiße Substanz ausschied, welche abfiltriert und so lange ausgewaschen wurde, bis keine Oxalsäure mehr nachzuweisen war. Das schwerlösliche Kaliumsalz wurde in Wasser gelöst,

die Lösung filtriert und das Filtrat mit Silbernitrat gefällt. Die Fällung wurde getrocknet und verbrannt. 0,0065 g gaben 0,0035 g Silber = 53,0% Silber. Die Theorie verlangt für das zuckersaure Silber 50,94% Silber. Leider reichte die Substanz für eine zweite Bestimmung nicht aus. Die erhaltene Silbermenge ist 2% höher als die theoretische Menge. Es ist möglich, daß das zuckersaure Silber etwas Silberoxalat einschloß; da anscheinend große Mengen von Oxalsäure, aber kleine Mengen von Zuckersäure bei der Oxydation entstanden waren, war die Reindarstellung des zuckersauren Kaliums sehr erschwert. Da das ausgeschiedene Kali- und Silbersalz dem Aussehen nach den Salzen der Zuckersäure gleich, ist wohl anzunehmen, daß bei der Oxydation auch Zuckersäure entstanden war. Daß das Kohlenhydratgemisch in der Tat d-Glukose einschloß, ergibt sich aus der Bildung eines bei 204° schmelzenden Osazons. Dieses wurde wie folgt erhalten: 6 g des Sirups, welche 2 g Zucker enthielten, wurden mit 4,5 g essigsaurem Phenylhydrazin auf dem Wasserbad erhitzt. Beim Abkühlen schied sich ein Osazon aus, dessen Schmelzpunkt bei 170° lag. Durch Reinigen desselben mit Äther und Wasser und öfteres Umkrystallisieren aus heißem Alkohol gelang es, ein Osazon herzustellen, dessen Schmelzpunkt bei 204° lag.

Wir haben noch andere grüne Pflanzenteile und auch junge Knospen untersucht und konnten aus allen kohlenhydrathaltige Präparate darstellen. Alle die untersuchten Phosphatidpräparate erwiesen sich kohlenhydrathaltig, auch nach energischem Behandeln mit Wasser bzw. verdünnten Säuren, doch zeigten die in verschiedene Lösungsmittel übergegangenen Präparate einen verschiedenen Phosphor- und Kohlenhydratgehalt.

Die Untersuchungen werden weiter fortgesetzt und hoffen wir insbesondere aus grünen Pflanzenteilen einheitliche Substanzen herzustellen.

Zusammenfassung der Resultate.

Aus den mitgeteilten Versuchsergebnissen geht hervor, daß die von uns aus verschiedenen pflanzlichen Objekten dargestellten, in absolutem Äther und Alkohol löslichen Präparate,

welche wir mit dem Namen «Phosphatide» bezeichnet haben, bei der Spaltung mit Säuren Kohlenhydrate liefern; nur das aus *Pinus cembra* gewonnene Präparat erwies sich kohlenhydratfrei. Die durch Säuren abspaltbaren Mengen reduzierender Substanzen schwanken bei den aus verschiedenen Pflanzensamen und anderen pflanzlichen Objekten dargestellten Phosphatiden innerhalb weiter Grenzen. Ein aus *Triticum vulgare* dargestelltes und näher untersuchtes Präparat enthielt über 16, ein aus *Lupinus albus* gewonnenes Präparat über 13% Kohlenhydrat, währenddem das aus *Lupinus luteus* gewonnene Präparat nur wenig mehr als 1% reduzierender Substanz gab. Auch die aus demselben Ausgangsmaterial gewonnenen Präparate wiesen Unterschiede im Gehalt an Kohlenhydrat auf. Daß neben solchen kohlenhydrathaltigen Phosphatiden auch eigentliches Lecithin vorkommt geht aus dem Ergebnis hervor, welches bei Untersuchung der Samen von *Pinus cembra* erhalten wurde. Es ergab sich, daß durch Alkoholextraktion der entfetteten Samen ein Präparat erhalten werden konnte, welches beim Kochen mit Säuren nur minimale Mengen einer reduzierenden Substanz lieferte.

Da die untersuchten Phosphatide der Rohprodukte durch Behandeln mit Wasser gereinigt worden waren und da erst bei längerem bzw. bei wiederholtem Kochen mit Mineralsäuren die reduzierende Substanz vollständig von den anderen Komplexen losgelöst werden konnte und da man bis jetzt keine ätherlöslichen Kohlenhydrate kennt, die im Wasser nur schwer löslich sind, so darf man wohl der Vermutung Ausdruck verleihen, daß die untersuchten Phosphatide neben eigentlichem Lecithin auch Verbindungen desselben mit Kohlenhydratkomplexen enthielten. Diese Annahme wird noch durch die Tatsache gestützt, daß künstlich hergestellte «Verbindungen» von Lecithin mit Kohlenhydrat sich viel weniger widerstandsfähiger gegen Säuren erwiesen als unsere Phosphatide. Immerhin aber muß man in Betracht ziehen, daß das Lecithin die Eigenschaft besitzt, verschiedene Verbindungen zu adsorbieren, und es ist daher wohl möglich, daß diejenigen Phosphatide, welche nur einen geringen Gehalt an Kohlenhydrat aufweisen, letztere nur

in lockerer Bindung enthalten. Durch weitere Untersuchungen, besonders auch durch das Studium von Lecithinverbindungen, hoffen wir die Frage entscheiden zu können.

Es gelang uns, aus dem Cerealienphosphatid reine Galaktose abzuscheiden und das Vorhandensein von d-Glukose nachzuweisen. Es ist aber bis jetzt noch unentschieden, ob diese Hexosen als solche oder als Di- bzw. Polysaccharide vorhanden sind.

Verschiedene angeführte Versuchsergebnisse führen zur Schlußfolgerung, daß die aus Weizen gewonnenen Phosphatide neben Cholin noch andere stickstoffhaltige Komponenten einschlossen. Es ist ferner nicht ausgeschlossen, daß diese Präparate auch noch stickstofffreie Stoffe unbekannter Natur enthalten.

Ob in den aus anderen Samen dargestellten Phosphatidpräparaten der mit dem Kohlenhydrat verbundene phosphor- und stickstoffhaltige Komplex nur Lecithin ist oder nicht, kann auf Grund der bis jetzt vorliegenden Untersuchungen noch nicht mit Sicherheit entschieden werden: doch spricht für die erste Annahme die Tatsache, daß in diesen Präparaten Stickstoff und Phosphor in demjenigen Verhältnis vorhanden sind wie im eigentlichen Lecithin, auch ist darauf hinzuweisen, daß in den an Kohlenhydrat sehr armen Präparaten aus *Lupinus luteus* und *Vicia sativa* der Phosphorgehalt ungefähr mit denjenigen übereinstimmt, die sich als Mittelwerte für ein Gemisch von Distearyl-Dipalmityl und Dioleyllecithin berechnen lassen.¹⁾

Durch diese Befunde ist eine weitere Beziehung zwischen Pflanzen- und Tierreich aufgefunden worden. Es sei zunächst an das aus Blut und aus manchen tierischen Organen gewonnene Jecorin erinnert. Ferner sei darauf hingewiesen, daß die von J. Bang aus Pankreas dargestellte Nucleinsäure, die sogenannte Guanylsäure, bei der Spaltung mit Säuren neben dem N-haltigen Guanin auch Glycerin, Pentosen (Xylose) und Phosphorsäure liefert. Die erwähnte Guanylsäure ist nicht ätherlöslich, gehört also nicht in die Gruppe der Verbindungen, die wir mit dem Namen Phosphatide bezeichnet haben.

¹⁾ Vergleiche die Abhandlung von E. Schulze, Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 54.