

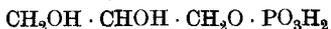
Über die Glycerin-phosphorsäuren aus Lecithin

von P. Karrer und Harry Salomon.

(26. XI. 25.)

I.

Die Konstitution der Glycerin-phosphorsäure, welche die Grundlage des Lecithins, und speziell des Ei-Lecithins, bildet, schien mit dem Augenblick gelöst, als *Willstätter* und *Lüdecke*¹⁾ zeigten, dass sie schwache optische Aktivität besitzt; denn solche war nur mit der Konstitution einer Glycerin- α -phosphorsäure (I) vereinbar.



I



II

Die beiden Forscher isolierten ein Bariumsalz mit der spez. Drehung $[\alpha]_{\text{D}} = -1,7^{\circ}$ und ein ebensolches Calciumsalz, für das sie fanden $[\alpha]_{\text{D}} = -2,1^{\circ}$.

Indessen zeigte sich später, dass in den Löslichkeitsverhältnissen der Bariumsalze von synthetischer Glycerin- α -phosphorsäure, Glycerin- β -phosphorsäure (II) und Glycerin-phosphorsäure aus Lecithin grosse Unterschiede bestehen. *d,l*-Glycerin- α -phosphorsaures Barium löst sich in Wasser von 16° nur zu 1,87%²⁾. Das Bariumsalz der Glycerin- β -phosphorsäure ist in mehreren krystallisierten Modifikationen bekannt; ihre Löslichkeiten in Wasser von 21° betragen 3,5%, 4,3%, 5,2%³⁾. Von dem mit Alkohol gefällten amorphen Bariumsalz der Glycerin-phosphorsäure aus Ei-Lecithin nehmen aber 100 Teile Wasser bei 17° bis 50 Teile auf, und die von *Lüdecke* daraus isolierte krystallisierte Fraktion⁴⁾ besass immer noch eine Wasserlöslichkeit von 8,5%. Ähnliche Differenzen bestehen in den Löslichkeiten der Calciumsalze der natürlichen und synthetischen Glycerin-phosphorsäuren.

Die Frage nach der Einheitlichkeit der Lecithin-Glycerin-phosphorsäure wurde zuerst in der Arbeit von *Power* und *Tutin*⁵⁾ aufgerollt; sie bezweifelten die Reinheit des von *Willstätter* und *Lüdecke* aus Ei-Lecithin isolierten glycerin-phosphorsauren Bariums und bemerkten, dass die beobachtete Aktivität die Gegenwart der symmetrischen Säure nicht ausschliesse.

¹⁾ B. **37**, 3753 (1904).

²⁾ Vergl. *E. Fischer* und *E. Pfähler*, B. **53**, 1617 (1920), die eine Löslichkeit von 1,3% finden.

³⁾ *Bailly*, Ann. chim. [9] **6**, 96 (1916), und zwar 234 ff.

⁴⁾ Diss. München 1905, S. 31.

⁵⁾ *Power*, *Tutin*, Soc. **87**, 249 (1905); *Tutin*, *Hann*, Soc. **89**, 1749 (1906).

Später haben *Fourneau* und *Piettre*¹⁾ das entsprechende Calciumsalz aus Lecithin hergestellt und es in zwei Fraktionen zerlegt, von denen die eine krystallisierte. Sie sprachen daher die Vermutung aus, die Glycerin-phosphorsäure aus Lecithin sei eine Mischung von α - und β -Säure. Es war ihnen nicht möglich, an ihren Präparaten optische Aktivität nachzuweisen.

In einer sehr eingehenden und interessanten Untersuchung hat sich später *O. Bailly*²⁾ mit diesem Problem befasst. Er wies zunächst nach, dass das „krystallisierte glycerin-phosphorsaure Natrium“ des Handels, das nach einem Patent (F. P. 373112) von *Poulenc frères* (1907) hergestellt wird, eine Mischung zweier strukturisomerer glycerin-phosphorsaurer Salze ist; der eine Anteil krystallisiert, der andere nicht. Die krystallisierte Verbindung wurde als glycerin- β -phosphorsaures Natrium, die nicht krystallisierende als Salz der α -Glycerin-phosphorsäure angesprochen. Dann zeigte *Bailly*, dass man dieselben zwei Verbindungen, eine krystallisierte und eine amorphe, auch aus dem Ei- und Gehirn-Lecithin isolieren kann, so dass er mit Bestimmtheit die Ansicht vertrat, die Lecithine seien teils auf die Glycerin- α -phosphorsäure, teils auf Glycerin- β -phosphorsäure zurückzuführen. In welchen quantitativen Verhältnissen die beiden Säuren hier auftreten, konnte er nicht genau ermitteln. „Plusieurs séries d'essais effectués dans des conditions différentes m'ont conduit à des résultats différents“; er begnügt sich daher festzustellen, dass das krystallisierte (β -) Salz überwiegt. Übrigens waren auch seine Präparate optisch inaktiv.

Die Arbeiten *Bailly's* haben nicht genügende Beachtung gefunden. In fast allen modernen Lehrbüchern ist dem Lecithin nach wie vor die Glycerin- α -phosphorsäure zugrunde gelegt. Das dürfte vielleicht damit zusammenhängen, dass die Konstitutionsbeweise, die *Bailly* für seine beiden strukturisomeren Natriumsalze anführt, sich auf folgende Angaben beschränken:

Die Glycerin- α -phosphorsäure soll durch Oxydation mit Brom ein Derivat des Dioxy-acetons liefern, $\text{Na}_2\text{PO}_3 \cdot \text{OCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2\text{OH}$.

Solche Verbindungen geben aber nach *Denigès*³⁾ in konz. Schwefelsäure mit gewissen Phenolen (Codein, Resorcin, Thymol etc.) intensive Färbungen. Tatsächlich fielen diese Reaktionen mit dem amorphen glycerin-phosphorsauren Natrium positiv, mit dem krystallisierten negativ aus, woraus für das amorphe Salz α -Struktur, für das krystallisierte β -Struktur abgeleitet wurde.

Zum Nachweis der Verbindung $\text{Na}_2\text{PO}_3 \cdot \text{OCH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$ hat *Bailly* ferner die Beobachtung von *Pinkus*⁴⁾ benutzt, wonach die Dioxy-acetonderivate, mit verd. Schwefelsäure destilliert, in Methylglyoxal zerfallen. Als er das mit Brom erhaltene Oxydationsprodukt des

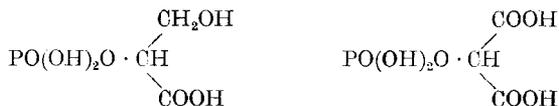
¹⁾ Bl. [4] 11, 805 (1912).

²⁾ Ann. chim. [9] 6, 96 (1916).

³⁾ C. r. 148, 172, 282 (1909).

⁴⁾ B. 31, 31 (1896).

amorphen glycerin-phosphorsauren Natriums solcher Destillation unterwarf, gelang es ihm tatsächlich, Methylglyoxal nachzuweisen; mit dem krystallisierten Natriumsalz versagte die Reaktion. Die mit Brom erhaltenen Oxydationsprodukte des letzteren waren ohne Reduktionsvermögen auf *Fehling'sche* Lösung, färbten fuchsinschweflige Säure nicht und zeigten sauren Charakter, so dass *Bailly* glaubt, sie bestünden aus Verbindungen folgender Art:



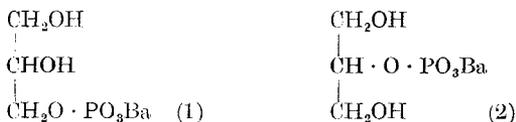
Isoliert wurden sie nicht.

Man kann sich zu diesen Beweisen stellen wie man will, so wird man nicht bestreiten, dass zur restlosen Abklärung der Frage neue Beobachtungen nur nützlich sein können.

II.

Die Veranlassung, dass wir uns mit der Glycerin-phosphorsäure aus Lecithin beschäftigten, war der Wunsch, deren Konfiguration mit derjenigen konfigurativ aufgeklärter Verbindungen in Beziehung zu setzen.

Dabei fanden wir zunächst ein Verfahren, das die Trennung des glycerin- β -phosphorsauren Bariums (2) von dem Bariumsalz der Glycerin- α -phosphorsäure (1) schnell und leicht erlaubt.

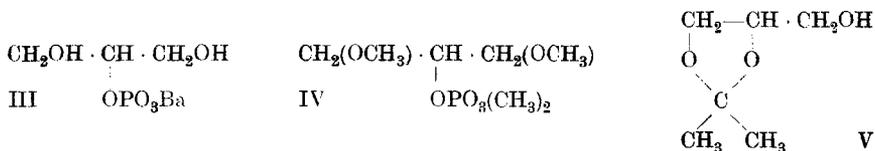


Es beruht darauf, dass das Bariumsalz der Glycerin- β -phosphorsäure mit Bariumnitrat ein sehr schwer lösliches, ausgezeichnet krystallisiertes Doppelsalz liefert, glycerin- α -phosphorsaures Barium dagegen nicht. Die Molekularverbindung hat die Zusammensetzung $2 \text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PBa} \cdot 1 \text{Ba}(\text{NO}_3)_2$. Dasselbe Salz wird auch gefällt, wenn man die Lösung des glycerin- β -phosphorsauren Bariums mit Natriumnitrat oder Kaliumnitrat versetzt; die in einer solchen Lösung vorhandenen Ionen von Glycerin- β -phosphorsäure, Barium (Ba^{++}) und Salpetersäure (NO_3') vereinigen sich dann zu der schwerlöslichen Molekularverbindung $2 \text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PBa} \cdot 1 \text{Ba}(\text{NO}_3)_2$.

Aus dem Doppelsalz von glycerin- β -phosphorsaurem Barium und Bariumnitrat lässt sich die freie Glycerin- β -phosphorsäure durch Schwefelsäure abtrennen (vergl. experimenteller Teil) und in das einfache, nunmehr einheitliche Bariumsalz III zurückführen.

Der eindeutige Beweis, dass sich diese schwerlösliche Molekularverbindung mit Bariumnitrat von der Glycerin- β -phosphorsäure, und nicht von der isomeren α -Form ableitet, liegt darin, dass *die Säure*,

welche diese Doppelverbindung eingeht, sowohl in freier Form, wie als Salz und als methylierter Ester IV inaktiv ist, während Derivate derjenigen Glycerin-phosphorsäure, die zur Bildung schwerlöslicher Addukte mit Bariumnitrat nicht befähigt erscheint, aus Lecithin in optisch aktiver Form isoliert werden konnten (vergl. nachstehend). — Damit befindet sich weiter in Übereinstimmung, dass aus der Glycerin-phosphorsäure, die man aus Acetonglycerin V erhält und die demnach den Phosphorsäurerest nur in α -Stellung tragen kann, eine schwerlösliche Bariumnitrat-additionsverbindung nicht gebildet wird.



Auf Grund dieser so gesicherten Konstitutionsformeln für die beiden isomeren Glycerin-phosphorsäuren war es möglich, nachzuweisen, dass *Bailly* mit der Verteilung der beiden Formeln auf die synthetisch dargestellten isomeren Glycerin-phosphorsäuren das Richtige getroffen hatte. *Bailly* hatte gefunden, dass das krystallisierte glycerin-phosphorsaure Natrium des Handels zum überwiegenden Teil aus β -Säure besteht, da er aus ihm durch Oxydation mit Brom keine die *Denigès*'sche Reaktion liefernde Oxydationsflüssigkeit erhalten konnte. Nach unseren Erfahrungen besteht das von *Kahlbaum* in den Handel gebrachte krystallisierte Natriumsalz der Glycerin-phosphorsäure aus einer Mischung von mehr β - und weniger α -Form. Verwandelt man es mittels Bariumchlorid in das Gemisch der Bariumsalze und kocht diese in mässig konzentrierter Lösung, so fällt glycerin- α -phosphorsaures Barium, das in heissem Wasser weniger löslich ist als in kaltem, krystallisiert aus; war die Konzentration nicht zu gross, so bleibt das Salz der β -Säure (zusammen mit α -Salz) unter diesen Verhältnissen in Lösung und kann daraus durch Alkohol wieder ausgefällt werden. Es gibt mit dem Nitrat des Bariums die charakteristische schwerlösliche Doppelverbindung; dagegen versagt die Reaktion bei dem heiss ausgefallten Bariumsalz der Glycerin- α -phosphorsäure.

III.

Die Molekularverbindung des glycerin- β -phosphorsauren Bariums mit Bariumnitrat ist in Wasser recht schwer löslich. 100 Teile Wasser von 18° nehmen von der Verbindung $2 \text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PBa} \cdot 1 \text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ nur 0,8 Teile auf.

Diese Schwerlöslichkeit erlaubt es, die Glycerin- β -phosphorsäure in einem Gemisch von α - und β -Form annähernd quantitativ zu bestimmen.

Wir haben Präparate von glycerin-phosphorsaurem Barium, die aus verschiedensten Phosphatiden stammten, nach dieser Richtung untersucht.

Bei quantitativen Ermittlungen hat man folgendes zu beachten. Wenn man das Lecithin mit wässrigem Barythydrat verseift, hierauf das überschüssige Bariumhydroxyd mit Kohlensäure niederschlägt und aus dem konzentrierten Filtrat die Bariumsalze der Glycerin-phosphorsäuren mit Alkohol fällt, so bleiben erhebliche Mengen der Glycerin-phosphorsäuren als Cholinsalz in der wässrig-alkoholischen Flüssigkeit. Nach dem Eindampfen der Fällungslaugen gewinnt man einen syruösen Rückstand, in dem neben freiem Cholin dessen glycerin-phosphorsaure Salze vorkommen. In wässriger Lösung, die Bariumhydroxyd, Cholin und Glycerin-phosphorsäure enthält, stellt sich somit ein Gleichgewicht zwischen dem Barium- und dem Cholinsalz der Glycerin-phosphorsäure ein. Will man dasselbe zu Gunsten des ersteren verändern, so muss man die Alkoholfällung des glycerin-phosphorsauren Bariums bei Gegenwart von überschüssigem Barythydrat vornehmen; da nur das Bariumsalz durch Alkohol niedergeschlagen wird, das Cholinsalz nicht, so verschiebt sich unter diesen Arbeitsbedingungen das Gleichgewicht zu Gunsten der Bariumverbindung. Auf diese Erscheinung hat man unseres Wissens bisher nicht aufmerksam gemacht.

Weitgehend gereinigte und fraktionierte Ei-Lecithinpräparate¹⁾ verdanken wir Herrn *H. H. Escher* in Zürich. Wir haben sie in der bekannten Art durch Schütteln mit 10-proz. Barytlösung bei Zimmertemperatur verseift und daraus das mit Alkohol leicht fällbare glycerin-phosphorsaure Barium abgetrennt. Auf diese pulverigen, rein weissen Präparate beziehen sich die folgenden Angaben.

Bei der Ausbeutebestimmung der Glycerin- β -phosphorsäure verfahren wir meist so, dass wir 1,0 gr des Bariumsalzes in 10 cm³ Wasser lösten und hierzu eine Lösung von 0,8 gr Ba(NO₃)₂ in 10 cm³ Wasser, fügten. Nach 12 Stunden wurde der auskrystallisierte Niederschlag von [C₃H₇O₆PBa]₂ · Ba(NO₃)₂ abgenutzt, mit 4 cm³ eiskaltem Wasser hierauf mit Alkohol und Äther gewaschen, getrocknet und gewogen. Zu seinem Gewicht sind, entsprechend der Löslichkeit des Doppelsalzes in Wasser (0,8—1,0%) noch 0,2 gr hinzuzuzählen, wenn man die Gesamtausbeute an Bariumsalz der Glycerin- β -phosphorsäure ermitteln will²⁾. 1 gr glycerin-phosphorsaures Barium liefert theoretisch 1,42 gr Doppelverbindung.

¹⁾ Vergl. *Helv.* **8**, 686 (1925).

²⁾ Diese Ausbeuten bedeuten stets Minimalwerte; wahrscheinlich sind die in Wirklichkeit sich bildenden Mengen von Doppelnitrat noch etwas höher, da dessen Löslichkeit in den verschiedene andere Salze enthaltenden Fällungslaugen grösser als in reinem Wasser sein dürfte.

Zur Prüfung der Ausbeutebestimmungsmethode fällten wir zuerst 1,0 gr reines, synthetisches glycerin- β -phosphorsaures Barium in der geschilderten Art mit 1,0 gr Bariumnitrat und gewannen 1,17 gr Doppelverbindung. Rechnet man hierzu die 0,2 gr, welche in den 20 cm³ der Mutterlauge gelöst blieben, so beträgt die Gesamtausbeute 1,37 gr, während die Theorie maximal 1,42 gr voraussieht. Die Zulässigkeit des Verfahrens ist damit erhärtet.

Über die aus verschiedenen Phosphatiden abgetrennten Mengen von Glycerin- β -phosphorsäure orientiert folgende Tabelle:

Art des benutzten Phosphatids	Angewandte Menge von glycerin-phosphorsaurem Barium	Erhaltene Menge von $(C_3H_7O_6PBa)_2 \cdot Ba(NO_3)_2$ + 0,2 gr	Gehalt des glycerin-phosphorsauren Bariums an β -Säure
Krystallisiertes Ei-Lecithin ¹⁾ .	1,0 gr	1,12 gr	80%
Durch Ausfrieren aus Äther gereinigtes Ei-Lecithin ¹⁾ .	1,0 gr	1,2 gr	84%
In absol. Alkohol schwer lösliche Phosphatidfraktion aus Ei (Kephalin?) . . .	1,0 gr	0,64 gr	45%
In absol. Alkohol unlösliche Phosphatidfraktion aus Ei (Sphingomyelin?)	1,0 gr	1,04 gr	73%
Lecithinfraktion aus Gehirn .	1,0 gr	1,1 gr	78%
Ei-Lecithin des Handels . .	1,0 gr	1,0 gr	70%

Dieser Tabelle ist zu entnehmen, dass sowohl im Ei- wie im Gehirn-Lecithin Glycerin- β -phosphorsäure in bedeutenden Mengen enthalten ist. In dem durch Alkohol pulverig fällbaren glycerin-phosphorsauren Barium kann ihre Menge mehr als 80% betragen.

Die quantitative Bestimmung der Glycerin- β -phosphorsäure nach der geschilderten Methode wird bei zukünftigen Untersuchungen über natürliche Lecithine eines der wesentlichsten Hilfsmittel zur Beurteilung der Einheitlichkeit solcher Präparate sein.

Auch in pflanzlichen Phosphatiden kommt die β -Säure vor. Wir haben sie zunächst in demjenigen der Erbsen nachgewiesen, bezw. daraus als Doppelverbindung $[C_3H_7O_6PBa]_2 \cdot Ba(NO_3)_2$ abgetrennt. Betreffs der Ausbeute lässt sich in diesem Fall noch kein abschliessendes Urteil fällen, da die aus pflanzlichen Lecithinen isolierten Bariumsalze der Glycerin-phosphorsäuren unrein zu sein scheinen.

IV.

Das glycerin-phosphorsaure Barium aus Ei-Lecithin haben *Willstätter* und *Lüdecke* linksdrehend gefunden. Die optischen Bestim-

¹⁾ Betreffend Herstellung solcher Präparate vergl. *Heinr. H. Escher*, Helv. **3**, 686 (1925.)

mungen scheinen ausschliesslich an dem rohen, mit Alkohol mehrmals umgefällten Präparat ausgeführt worden zu sein, das, wie wir eben zeigten, bis zu 85% Glycerin- β -phosphorsäure enthalten kann. Zur Beobachtung kamen sehr konzentrierte, bis 44-proz. wässrige Lösungen. Reines, inaktives glycerin- α -phosphorsaures Barium löst sich dagegen nur bis 1,8%¹⁾ in Wasser.

Fourneau und später *Bailly* war es nicht möglich, an den glycerin-phosphorsauren Barium-Präparaten aus Ei- und Gehirn-Lecithin optische Aktivität zu erkennen, wohl aber fand *Levene* solche Salze schwach linksdrehend²⁾.

An dem Bariumsalz der Glycerin-phosphorsäure aus pflanzlichen Phosphatiden beobachtete *Trier* Rechtsdrehung³⁾; es lenkte also das polarisierte Licht nach der entgegengesetzten Seite ab wie die Präparate aus Ei-Lecithin von *Willstätter* und *Lüdecke*. Sehr bemerkenswert ist dabei die Feststellung *Triers*, dass die spezifische Drehung seines Bariumsalzes, die nach dem ersten Ausfällen der Verbindung noch den hohen Wert von 15° besass, durch eine zweite Umfällung bis auf +1,7° zurückging; es waren dadurch also wesentliche Mengen stark optisch aktiver Begleitstoffe abgetrennt worden.

S. Fränkel gewann aus einem Menschenhirn-Lecithin eine als Bariumsalz rechtsdrehende Glycerin-phosphorsäure.⁴⁾

Mit den Beobachtungen *Fourneau's* und *Bailly's* stimmen die unserigen soweit überein, als es bei verschiedenen Roh-Präparaten von glycerin-phosphorsaurem Barium aus Ei-Lecithinen (es kamen mehr als ein Dutzend solcher zur Prüfung) nicht möglich war, optische Aktivität zu erkennen. Eines (aus einem krystallisierten Lecithin) war dagegen stark linksdrehend; seine 35-proz. Lösung lenkte im 2 dm Rohr das polarisierte Licht um $-0,4^\circ$ ab. Aus diesem Präparat haben wir aber ca. 80% Glycerin- β -phosphorsäure isoliert; wäre seine optische Aktivität auf glycerin- α -phosphorsaures Barium zurückzuführen, so hätte dieses eine sehr grosse, für solche Glycerinderivate ungewöhnlich starke spezifische Drehung besitzen müssen. — Ein anderes Präparat von rohem Bariumsalz der Glycerin-phosphorsäuren aus Ei-Lecithin fanden wir rechtsdrehend; ebenso die syrupösen, glycerin-phosphorsaures Cholin enthaltenden Rückstände des gleichen Ansatzes, der ein linksdrehendes Bariumsalz geliefert hatte.

Auch die Beobachtung *Triers*, dass Präparate von glycerin-phosphorsaurem Barium aus pflanzlichen Phosphatiden rechts drehen, konnten wir für ein solches aus Erbsen bestätigen.

Diese merkwürdigen Unregelmässigkeiten lassen den Verdacht aufkommen, die optische Aktivität solcher Roh-Präparate von glycerin-

¹⁾ Ann. chim. [9] **6**, 96 (1916).

²⁾ P. A. *Levene* und *Rolf*, J. of Biol. Chem. **40**, 1 (1919).

³⁾ Z. physiol. Ch. **86**, 18 (1913).

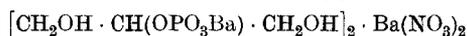
⁴⁾ Bioch. Z. **124**, 216 (1921).

bildete Bariumnitrat in die schwerlösliche Doppelverbindung verwandelt, die sich der Methylierung fast ganz entzieht.

Der Dimethylester des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers war stets linksdrehend (höchste beobachtete spez. Drehung $-3,2^{\circ}$ (Natriumlicht)), gleichgültig ob er aus Ei- oder pflanzlichen Phosphatiden (Erbsen) gewonnen war. Wir haben namentlich eine sehr grosse Zahl von Ei-Lecithinen untersucht und niemals einen rechtsdrehenden Ester beobachtet. Soweit unsere Versuche reichen, liess sich somit ein natürliches Vorkommen der enantiomorphen Form nicht nachweisen.

Ob die spez. Drehung von $-3,2^{\circ}$ diejenige der optisch reinen Verbindung ist, vermögen wir nicht zu sagen; wahrscheinlich enthalten diese Präparate noch kleine Mengen des isomeren, inaktiven Methyl-esters des Glycerin- β -phosphorsäure-methyläthers. Von der strukturell einheitlichen, von β -Verbindung freien Glycerin- α -phosphorsäure aus Lecithin stand uns nicht genügend Material zur Verfügung, um den Ester in Quantitäten herzustellen, die eine Fraktionierung durch Destillation ermöglicht hätten.

Der Dimethylester des Glycerin- β -phosphorsäure-dimethyläthers VII (s. o.) besitzt sehr ähnliche Eigenschaften wie die verwandte, den Phosphorsäurerest in α -Stellung tragende Verbindung. Im Vakuum leicht destillierbar, bildet er eine wasserklare, bewegliche Flüssigkeit mit konstantem Siedepunkt. In strukturell einheitlicher Form (frei von dem α -Isomeren) gewinnt man ihn aus den Doppelsalzen, welche das glycerin- β -phosphorsäure Barium mit Nitraten eingeht. Zu diesem Zweck zersetzt man das Bariumnitrat-Doppelsalz



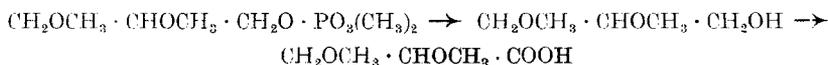
mit so viel Schwefelsäure, dass zwei Drittel des gesamten Bariumions in Bariumsulfat verwandelt werden. Der zur Trockene gebrachten Reaktionsmasse wird die freie Glycerin- β -phosphorsäure mit Alkohol entzogen. Mittels Baryt stellt man aus ihr das einfache Bariumsalz $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CH}(\text{OPO}_3\text{Ba}) \cdot \text{CH}_2\text{OH}$, aus diesem durch Soda das Natrium-, daraus schliesslich das Silbersalz dar. Letzteres liefert bei der Methylierung mit Methyljodid und Silberoxyd den Dimethylester des Glycerin- β -phosphorsäure-dimethyläthers. Dieser ist optisch inaktiv, ein Beweis, dass er von der entsprechenden strukturisomeren α -Verbindung frei ist.

Es wurde schon erwähnt, dass beim Umsatz des rohen glycerin-phosphorsäuren Bariums, der Mischung von α - und β -Salz, mit Silbernitrat im wesentlichen das Silbersalz der Glycerin- α -phosphorsäure gebildet wird, während sich das glycerin- β -phosphorsäure Barium mit Bariumnitrat zu dem Doppelsalz vereinigt und in dieser Form ausfällt. Bei der Methylierung dieser Niederschläge mit Methyljodid und Silberoxyd tritt dann fast nur das Silbersalz der Glycerin- α -phosphorsäure in

Reaktion, so dass man einen Dimethylester des Glycerin-phosphorsäure-dimethyläthers bekommt, dessen höchste beobachtete spez. Drehung $-3,2^{\circ}$ betrug. — Will man das gesamte Gemisch der Glycerin- α -phosphorsäure und Glycerin- β -phosphorsäure methylieren, so ist es notwendig, das Bariumsalz durch Soda zunächst ins Natriumsalz, dieses ins Silbersalz zu verwandeln und letzteres der Behandlung mit Methyljodid zu unterwerfen. Dabei wurde ein Gemisch der Dimethylester von Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläther und Glycerin- β -phosphorsäure-dimethyläther erhalten, für welches $[\alpha]_D$ einmal $= -0,7^{\circ}$ gefunden wurde; ein anderes Mal $-1,3^{\circ}$. Diese niederen Drehwerte zeigen von einer ganz anderen Seite, dass die Rohpräparate von glycerin-phosphorsaurem Barium aus Lecithin Mischungen von Salzen sind, die sich von der α -Säure und von der β -Säure ableiten, und in denen die Glycerin- β -phosphorsäure überwiegt; denn unser Dimethylester des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers, der vielleicht auch noch etwas β -Verbindung enthielt, besass die $2\frac{1}{2}$ - bis 5-mal höhere spez. Drehung $-3,2^{\circ}$, ein Wert, der von der optisch reinen Substanz wohl noch etwas übertroffen werden dürfte.

Verhalten des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläther-dimethylesters gegen Säuren.

Wie wir einleitend erwähnten, lag der vorliegenden Arbeit ursprünglich der Wunsch zugrunde, die Konfiguration der Glycerin- α -phosphorsäure aus Lecithin zu bestimmen. In dem gewonnenen Dimethylester des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers schien ein hierfür geeignetes Material gefunden; man brauchte nur den Phosphorsäurerest hydrolytisch abzuspalten und den dabei sich bildenden α, β -Glycerin-dimethyläther zu oxydieren, um zu der konfigurativ bekannten, methylierten Glycerinsäure zu gelangen:



Dieser Plan scheiterte jedoch an der ausserordentlichen Beständigkeit des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers gegen hydrolysierende Agentien. Verdünnte Säuren spalten beim Kochen nur spurenweise Phosphorsäure ab; man muss die Verbindung schon mit recht starker Schwefel- oder Salzsäure tagelang im Rohr auf 150 bis 160 $^{\circ}$ erhitzen, um erhebliche Phosphorsäurebildung zu erzielen; auch dann ist die hydrolytische Zersetzung noch keineswegs vollkommen. Schwerwiegender ist der Umstand, dass bei diesen Eingriffen auch die Methoxylgruppen bereits verseift werden, so dass es nicht gelang, Glycerindimethyläther zu fassen, sondern nur gebildetes Glycerin nachzuweisen.

An einigen der vorliegenden Versuche hat sich Herr *P. Benz* beteiligt. Besonders möchten wir aber für wertvolle Mithilfe *Frl. Dr. R. Widmer* danken.

Experimenteller Teil.

Die Ausgangsmaterialien. Verseifung der Lecithine.

Unsere Versuche haben wir mit einer grossen Zahl, von verschiedenen Firmen bezogenen Ei-Lecithinen, ferner mit Präparaten, die Herr *H. H. Escher* in Zürich nach seinen kürzlich veröffentlichten Verfahren¹⁾ aus frischen Eiern hergestellt hatte, ausgeführt. Die *Escher'schen* Präparate sind vielleicht von allen bisher bekannt gewordenen Lecithinen die, welche am weitgehendsten gereinigt wurden. In der Kälte mikrokristallin, bilden sie bei Zimmertemperatur eine feste, schneeweisse Masse. — Die Extraktion der Gehirn-phosphatide aus mit Aceton getrocknetem Ochsenhirn nahmen wir nach der von *H. Maclean*²⁾ beschriebenen Methode vor; sie wurden in eine alkohol-lösliche, eine schwer lösliche und eine alkohol-unlösliche Fraktion getrennt; übrigens gelangten auch alkohol-schwerlösliche („Kephalin“) und alkohol-unlösliche („Sphingomyelin“) Phosphatid-Anteile aus Eigelb zur Untersuchung. — Als Repräsentant eines pflanzlichen Lipoids diente ein Präparat, das aus Erbsenmehl isoliert und in zwei Fraktionen, eine in Alkohol leicht lösliche und eine darin schwer lösliche, zerlegt worden war.

Die Verseifung der Lecithine zu Glycerin-phosphorsäure geschah im allgemeinen nach den Angaben von *Willstätter* und *Lüdecke*³⁾ mit 10-proz. wässriger Barythydratlösung in der Kälte. Nach dem Ausfällen des überschüssigen Bariumhydroxyds durch Kohlensäure und nach dem Einengen des Filtrates, schlägt man das rohe glycerin-phosphorsaure Barium mit Alkohol nieder. Mehrmals umgefällt und getrocknet, stellt es ein weisses, in Wasser sehr leicht lösliches, amorphes Pulver dar. Die verdünnt-alkoholischen Mutterlaugen enthalten, wie oben erwähnt, noch viel Glycerin-phosphorsäure als Cholinsalz, das nach dem Verdampfen der Flüssigkeit als syrupöse Masse zurückbleibt. Aus ihm lassen sich neue Mengen des Bariumsalzes dadurch gewinnen, dass man die konzentrierte wässrige Lösung des Cholinsalzes mit einer alkoholischen Lösung von Bariumhydroxyd vermengt. Dabei scheidet sich das in Alkohol unlösliche glycerin-phosphorsaure Barium sogleich aus; von einer kleinen Quantität mitgerissenem Bariumhydroxyd wird es dadurch befreit, dass man in seine wässrige Auflösung Kohlendioxyd einleitet, und es aus dieser nach dem Abfiltrieren des Bariumcarbonats erneut mit Alkohol ausfällt.

Wie schon *Willstätter* und *Lüdecke* fanden, sind solche Präparate von glycerin-phosphorsaurem Barium aus Lecithin in Wasser sehr leicht löslich und fallen beim Kochen der wässrigen Lösung aus. Damit die Hitzefällung eintritt, ist aber grosse Konzentration notwendig; die ausgeschiedenen Niederschläge bestehen aus Mischungen von vie

¹⁾ Helv. **8**, 686 (1925).

²⁾ B. **37**, 3754 (1904).

³⁾ Lecithin and allied substances. The Lipins. London 1918, S. 73.

glycerin- β -phosphorsaurem Barium und wenig Bariumsalz der Glycerin- α -phosphorsäure. Reines glycerin- α -phosphorsaures Barium fällt schon aus viel grösseren Verdünnungen beim Kochen aus.

Bezüglich des Verhaltens der rohen Präparate von Barium-glycero-phosphat aus Lecithin gegen das polarisierte Licht vergl. den theoretischen Teil.

Abtrennung der Glycerin- β -phosphorsäure aus Lecithin.

Wenn man das Roh-bariumsalz der Glycerin-phosphorsäure aus Lecithin in 5 bis 10 Teilen Wasser löst und dazu die halbe Gewichtsmenge Bariumnitrat, in wenig heissem Wasser gelöst, hinzufügt, so beginnt nach wenigen Augenblicken die Krystallisation eines Doppelsalzes $[\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PBa}]_2 \cdot \text{Ba}(\text{NO}_3)_2$, die nach mehrstündigem Stehen beendigt ist. Die Verbindung ist praktisch schon fast rein. Für die Analyse kann sie in sehr viel heissem Wasser gelöst und durch Konzentration der Flüssigkeit wieder zum Auskrystallisieren gebracht werden. Sie scheidet sich dabei in krystallinen Krusten ab, die unter dem Mikroskop drusenförmigen Habitus zeigen.

Ihre Löslichkeit in Wasser ist gering; bei $+15^\circ$ werden 0,8% davon aufgenommen, in der Hitze nur wenig mehr. Die Löslichkeitsbestimmung wurde so ausgeführt, dass man — zur Entfernung allfälliger Spuren von leichter löslichen Verunreinigungen — das Doppelsalz zuerst mit einer zur Lösung unzureichenden Menge Wassers mehrere Stunden ausschüttelte, und hernach im ungelösten Anteil durch vierstündiges Schütteln mit Wasser eine gesättigte Lösung bereitete. Deren Gehalt an Salz betrug also 0,8%.

Die Analyse musste sich auf die Bestimmung von Barium, Phosphor und Stickstoff beschränken. Wie beim einfachen Bariumsalz der Glycerin-phosphorsäure versagen auch beim Doppelsalz die Kohlenstoffbestimmungen, weil die Asche stets etwas schwer verbrennliche Kohle zurückhält. Die Verbindung krystallisiert wasserfrei und verliert selbst bei 150° im Vakuum nicht an Gewicht.

0,2122 gr Subst. gaben	0,1684 gr BaSO_4
0,2022 gr Subst. gaben	0,1610 gr BaSO_4
0,2074 gr Subst. gaben	0,1660 gr BaSO_4
0,3070 gr Subst. gaben	0,0786 gr $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$
0,2700 gr Subst. gaben	0,0701 gr $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$
0,02252 gr Subst. gaben	0,652 cm^3 N_2 (16° , 734 mm)

$(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PBa})_2\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$	Ber. Ba 47,03	P 7,07	N 3,19%
(876,2)	Gef. „ 46,71; 46,87; 47,11	„ 7,13; 7,24	„ 3,29%

Die Ausbeute an Bariumnitrat-Doppelverbindung schwankt, auf das rohe glycerin-phosphorsaure Barium aus Ei-Lecithin berechnet, zwischen 70 bis 80%; wenn man hierzu diejenigen Mengen zählt, die in den Mutterlaugen zurückgehalten sind, so darf die Gesamtausbeute auf wenigstens 80% veranschlagt werden. So gaben z. B. 6 gr glycerin-phosphorsaures Barium, die aus reinstem Lecithin (*Escher*)

stammten, 6 gr Bariumnitrat-Doppelsalz, d. h. 70 % der Theorie, und in den Fällungslaugen mussten, entsprechend der Löslichkeit des Salzes, weitere 8—10% enthalten sein. (Vergl. auch theoret. Teil.)

Dieses Bariumnitrat-Doppelsalz leitet sich von dem glycerin- β -phosphorsauren Barium ab; das Bariumsalz der Glycerin- α -phosphorsäure liefert keine entsprechende, schwer lösliche Molekularverbindung. Der Beweis dafür liegt einmal darin, dass die aus Aceton-glycerin gewonnene¹⁾ Glycerin- α -phosphorsäure als Bariumsalz durch Bariumnitrat nicht gefällt wird, wohl aber das synthetisch erzeugte glycerin- β -phosphorsaure Barium; ferner zeugt dafür die optische Inaktivität des Doppelsalzes (geprüft wurde eine Auflösung in Chlorwasserstoffsäure) und aller Glycerin-phosphorsäurederivate, die aus ihm dargestellt wurden.

So haben wir aus dem Bariumnitrat-doppelsalz die freie Glycerin- β -phosphorsäure auf folgende Art zurückgewonnen. Eine genau abgewogene, bei 100° getrocknete, fein pulverisierte Menge der Bariumnitrat-Bariumglycerophosphat-Verbindung wurde mit etwas weniger n. Schwefelsäure, als zum Ausfällen von zwei Drittel des gesamten Bariumions notwendig war, versetzt. Nachdem man die Flüssigkeit eine Stunde bei Zimmertemperatur geschüttelt hatte, wurde sie vom Bariumsulfat abfiltriert und in einer geräumigen Schale im Vakuum-exsikkator über Phosphorpentoxyd bei gewöhnlicher Temperatur eingedunstet. Es hinterblieb ein Sirup, der von Bariumnitrat-Krystallen durchsetzt war. Wir haben ihn in absolutem Alkohol aufgenommen, die Flüssigkeit vom Ungelösten abfiltriert und sie nochmals im Vakuum bei Zimmertemperatur eingedunstet. Jetzt löste sich der Sirup, der zum grössten Teil aus freier Glycerin- β -phosphorsäure besteht, bis auf einen minimalen Rest klar in absolutem Alkohol auf. Die freie Glycerin-phosphorsäure ist recht beständig, Abspaltung von Phosphorsäure beobachteten wir nicht. Um sie wieder in das einfache Bariumsalz zurückzuverwandeln, haben wir die alkoholische Lösung mit Wasser verdünnt, mit Barytwasser bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt, hierauf das überschüssige Bariumhydroxyd durch Kohlendioxyd ausgefällt und das von Bariumcarbonat befreite Filtrat auf dem Wasserbad eingedampft.

Das so erhaltene Bariumsalz der Glycerin- β -phosphorsäure $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CH}(\text{OPO}_3\text{Ba}) \cdot \text{CH}_2\text{OH}$ ist in kaltem und heissem Wasser spielend löslich. Nur ganz konzentrierte wässrige Lösungen scheiden beim teilweisen Wegkochen des Wassers etwas Salz ab, das sich aber in der Kälte dann nicht wieder löst. Aus mässig konzentrierten wässrigen Lösungen wird es durch Alkohol als rein weisses Pulver gefällt. Es enthält 1 Mol. Wasser. *Eine 20-proz. wässrige Auflösung ist optisch vollkommen inaktiv.*

¹⁾ E. Fischer und E. Pfähler, B. 53, 1615 (1920).

0,5801 gr exsikkatortrockenes Salz verloren bei 100° im Vakuum 0,0309 gr H₂O.

C₂H₇O₆PBa + 1 H₂O Ber. H₂O 5,53% Gef. H₂O 5,32%
(325,37)

0,2638 gr Subst. gaben 0,2010 gr BaSO₄
0,2560 gr Subst. gaben 0,0948 gr Mg₂P₂O₇
C₃H₇O₆PBa Ber. Ba 44,69 P 10,10%
(307,4) Gef. „ 44,84 „ 10,31%

Dieses einfache Bariumsalz der Glycerin-β-phosphorsäure bildet mit Bariumnitrat sofort das schwer lösliche Doppelsalz zurück.

Zur Überführung des glycerin-β-phosphorsauren Bariums, das in der eben beschriebenen Weise aus dem Bariumnitrat-Bariumglycerophosphat zurückgewonnen war, in den Dimethylester des Glycerin-β-phosphorsäure-dimethyläthers (Formel VII, theor. Teil) wurde in folgender Art verfahren:

Wir verwandelten in Wasser gelöstes Bariumsalz durch Zugabe der berechneten Menge Soda oder Natriumsulfat in das Natriumsalz und setzten letzteres in ziemlich konzentrierter wässriger Lösung mit Silbernitrat zum glycerin-β-phosphorsauren Silber um; ein Teil desselben scheidet sich direkt aus, den Rest fällt man durch Zugabe des gleichen Volumens Alkohol. Es wird mit Alkohol und Äther gut ausgewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet. Wird dieses Salz nun in die dreifache Gewichtsmenge Methyljodid (8 Mol.) portionenweise und unter guter Kühlung eingetragen, so setzt die Methylierung desselben schnell ein; zuerst bildet sich der Glycerin-phosphorsäure-dimethylester. Ohne diesen zu isolieren, werden der Reaktionsmasse nach und nach drei Gewichtsteile trockenes Silberoxyd (3 Mol.) zugesetzt. Die Reaktion verläuft anfangs so heftig, dass das Methyljodid ohne äussere Wärmezufuhr ins Sieden kommt. Schliesslich führt man die Methylierung durch vierstündiges Erhitzen auf dem Wasserbad zu Ende, nachdem man gegen Schluss mit ungefähr demselben Volumen Äther verdünnt hat.

Jetzt wird das überschüssige Methyljodid abdestilliert, der Rückstand mit Äther extrahiert und die filtrierten, ätherischen Extrakte eingedampft. Es bleibt ein hellgelb gefärbtes Öl zurück, das man im Vakuum destilliert. Unter 0,8 mm geht die Hauptmenge bei 126—128° als wasserklare, farblose Flüssigkeit über. Wie die Analyse zeigt, ist die Verbindung der Dimethylester des Glycerin-β-phosphorsäure-dimethyläthers.

0,0169 gr Subst. gaben 0,02283 gr CO₂ und 0,01114 gr H₂O
0,2605 gr Subst. gaben 0,1270 gr Mg₂P₂O₇
C₇H₁₁O₆P Ber. C 36,81 H 7,45 P 13,60%
(228,17) Gef. „ 36,84 „ 7,32 „ 13,59%

Die Ausbeute an reinem Ester beträgt 70—80% der theoretischen (berechnet auf die Menge des angewandten glycerin-phosphorsauren Silbers); Nebenprodukte wurden nicht beobachtet.

Der auf diese Weise dargestellte Ester, der sich also von der nämlichen Glycerin-phosphorsäure wie die Nitrat-Doppelsalze ableitet, war optisch inaktiv. (Geprüft in ca. 10-proz. Lösung.) Er ist in Alkohol und Äther in jedem Verhältnis löslich, in Wasser wenig, und besitzt einen schwachen aromatischen Geruch.

Glycerin- α -phosphorsäure aus Ei-Lecithin.

Die Abtrennung von einheitlichem glycerin- α -phosphorsaurem Barium aus dem rohen Bariumsalz, wie es nach der Verseifung des Lecithins erhalten wird, macht nicht unerhebliche Schwierigkeiten und gelingt nur mit schlechter Ausbeute.

Das Bariumsalz der Glycerin- α -phosphorsäure ist zwar in heissem Wasser beträchtlich schwerer löslich als in kaltem und fällt beim Kochen mässig konzentrierter Lösungen aus; ist es aber mit viel Bariumsalz der β -Säure vermischt, so scheinen seine Löslichkeitsverhältnisse stark verändert. Niederschläge scheiden sich beim Sieden der Flüssigkeit dann erst aus solchen Konzentrationen ab, in denen auch das glycerin- β -phosphorsaure Barium ausflockt. Daher bestehen die mikrokrystallinen Bariumsalze, die beim Kochen konzentrierter wässriger Lösungen von rohem glycerin-phosphorsaurem Barium aus Ei-Lecithin ausfallen, zum grössten Teil aus dem Salz der Glycerin- β -phosphorsäure. Trennung auf dieser Basis macht Schwierigkeiten.

Besser ist es, dem rohen glycerin-phosphorsauren Barium das Salz der Glycerin- β -phosphorsäure durch Zusatz von Bariumnitrat als schwerlösliches Doppelsalz zu entziehen. Die Menge des Bariumnitrates wird so bemessen, dass durch sie 80% des Rohbariumsalzes gebunden werden können, d. h. der darin ungefähr sich findende Anteil an glycerin- β -phosphorsaurem Barium; auf 10 gr Rohbariumsalz nimmt man also ca. 3,4 gr $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$. Nach mehrstündigem Stehen nutschts man das auskrystallisierte Doppelsalz ab, engt das Filtrat auf ein kleines Volumen ein, trennt nach dem Erkalten eine kleine Menge noch ausgefallener Bariumnitratdoppelverbindung durch Filtration und kocht nun diese konzentrierte Lösung während mehreren Minuten. Jetzt fällt fast reines glycerol- α -phosphorsaures Barium krystallin aus. Es wird heiss abgenutscht, mit heissem Wasser ausgewaschen, wieder in kaltem Wasser gelöst, filtriert, und durch Kochen ausgefällt, und dieses Umlösen aus destilliertem Wasser fünf- bis sechsmal wiederholt. Dann ist dieses Bariumsalz der Glycerin- α -phosphorsäure frei von der isomeren β -Verbindung (negative Bariumnitratreaktion). Es löst sich in kaltem Wasser bedeutend leichter als in heissem. Auf das polarisierte Licht übte es keinen messbaren Einfluss aus.

Viel einfacher ist es, aus dem Roh-bariumsalz der Glycerin-phosphorsäuren (aus Ei-Lecithin) den Dimethylester des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers abzutrennen. Zu diesem Zweck wird das Bariumsalz in möglichst wenig kaltem Wasser gelöst und dazu die

berechnete Menge (2 Molekeln) Silbernitrat, ebenfalls in konzentrierter wässriger Lösung, gefügt. Hierbei fällt ein hellgelb gefärbter Niederschlag aus, dessen Menge nach Zusatz des gleichen Volumens Alkohol noch zunimmt. Er besteht aus dem Silbersalz der Glycerin- α -phosphorsäure $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}_2\text{OPO}_3\text{Ag}_2$, wenig glycerin- β -phosphorsäure Silber, ferner aus der Doppelverbindung des glycerin- β -phosphorsäuren Bariums mit Bariumnitrat $[\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P}\text{Ba}]_2\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$.

Man nützt diese Salzgemenge ab, wäscht es zuerst mit 50-proz., hierauf mit 95-proz. Alkohol, schliesslich mit Äther aus, und trocknet es im Vakuum. Wird es nun in der gleichen Weise mittels Methyljodid methyliert, wie wir es eben für die Methylierung des glycerin- β -phosphorsäuren Silbers beschrieben haben, so setzt sich im wesentlichen das Silbersalz der Glycerin- α -phosphorsäure zu dem entsprechenden Ester (Formel VI, theor. Teil) um. Nach der Extraktion des Rückstandes der Silberverbindungen mit Äther und nach Verdampfen des letzteren bleibt ein schwach gefärbtes Öl zurück, das im Vakuum bei 0,8 mm zwischen 125—126° wasserhell überdestilliert (Sdp._{0,4} 110—112°). Die Analyse zeigt, dass es reiner Dimethylester eines Glycerin-phosphorsäure-dimethyläthers ist. Sein Siedepunkt und die meisten übrigen Eigenschaften unterscheiden sich kaum von jenen des oben beschriebenen Dimethylesters des Glycerin- β -phosphorsäure-dimethyläthers. Im Gegensatz zu letzterem ist die gewonnene Verbindung jedoch optisch aktiv ($[\alpha]_D = -3,2$; höchste beobachtete Drehung). Das beweist, dass sie ganz oder teilweise aus dem Derivat der optisch aktiven Glycerin- α -phosphorsäure besteht. Ob und allenfalls wie viel Dimethylester des Glycerin- β -phosphorsäure-dimethyläthers in ihr enthalten ist, lässt sich noch nicht bestimmt sagen. Verschiedene Umstände sprechen dafür, dass der Gehalt an β -Verbindung nicht gross ist. Einmal beträgt die Ausbeute, berechnet auf das zur Methylierung angewandte Gemenge von Silbersalz und Bariumnitrat-doppelsalz der rohen Glycerin-phosphorsäure, nur ca. 10%, was nicht weit von dem durchschnittlichen Gehalt des Ei-Lecithins an Glycerin- α -phosphorsäure (ca. 15—20%) liegt.

Noch schwerer wiegt folgende Beobachtung. Wenn man aus dem rohen glycerin-phosphorsäuren Barium zunächst das Natriumsalz, und erst nachher das Silbersalz bereitet, so besteht letzteres sowohl aus dem Silbersalz der α -, wie der β -Glycerin-phosphorsäure; die β -Säure kann sich daher bei der Einwirkung von Methyljodid auf die Silbersalze in diesem Fall der Methylierung nicht entziehen und der dabei resultierende Ester muss eine Mischung von Glycerin- α -phosphorsäure- und Glycerin- β -phosphorsäurederivat sein. Tatsächlich ist seine spezifische Drehung entsprechend niedriger; für ein Präparat fanden wir $[\alpha]_D = -0,7^\circ$, für ein anderes $-1,3^\circ$. Da nach den Ergebnissen der Bariumnitrat-doppelsalz-Fällungen rohes glycerin-phosphorsäures Barium aus Ei-Lecithin mindestens 80% β -Säure enthält, muss man annehmen, dass ein ähnlicher Prozentsatz β -Ester in den Esterpräparaten mit den spez.

Drehungen $-0,7^{\circ}$ und $-1,3^{\circ}$ vorkommt; daraus würde sich für den reinen Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläther-dimethylester eine spez. Drehung von ca. $-3,5$ bis -6° berechnen, während unsere höchstdrehenden Präparate, wie erwähnt, das Licht um $3,3^{\circ}$ nach links ablenkten.

Analyse des optisch aktiven α -Glycerin-phosphorsäure-dimethyläther-dimethylesters:

0,007435 gr Subst. gaben 0,01000 gr CO_2 und 0,004855 gr H_2O

0,017510 gr Subst. gaben 0,02344 gr CO_2 und 0,01152 gr H_2O

0,2060 gr Subst. gaben 0,1000 gr $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$

$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_6\text{P}$ Ber. C 36,81 H 7,51 P 13,60%

(228,17) Gef. „ 36,68; 36,51 „ 7,26; 7,31 „ 13,53%

Polarisation in absolutem Alkohol:

0,5926 gr Substanz; Gesamtgewicht der alkoholischen Lösung

9,3116 gr; $l = 1$ dm; $d = 0,815$; $\alpha_D^{20} = -0,135$. Somit $[\alpha]_D^{20} = -2,63^{\circ}$.

Für ein zweites Präparat (aus anderem Lecithin) fanden wir:

0,766 gr Substanz; Gesamtgewicht der alkoholischen Lösung

9,209 gr; $l = 1$ dm; $d = 0,818$; $\alpha_D^{20} = -0,223$. Somit $[\alpha]_D^{20} = -3,28$.

Der Dimethylester des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers hat gleiche Löslichkeitsverhältnisse wie die von der Glycerin- β -phosphorsäure sich ableitende, analoge Verbindung.

Wir haben oben erwähnt, dass die Fällung, die bei Zugabe von konzentrierter Silbernitratlösung zur konzentrierten wässrigen Auflösung von rohem glycerin-phosphorsaurem Barium aus Ei-Lecithin entsteht, neben dem Silbersalz der Glycerin- α -phosphorsäure die Doppelverbindung des glycerin- β -phosphorsauren Bariums mit Bariumnitrat enthält. Wird dieses Salzgemenge nach erfolgter Methylierung mit sehr viel kaltem Wasser extrahiert, so gehen erhebliche Mengen des Doppelsalzes Barium- β -glycero-phosphat-Bariumnitrat $[\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PBa}]_2 \text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ in Lösung, und man kann dieses nach dem Konzentrieren der Flüssigkeit als krystallines Pulver abtrennen. Das Präparat zeigt alle vorbeschriebenen Eigenschaften dieser Substanz.

Nachweis der Glycerin- β -phosphorsäure und Glycerin- α -phosphorsäure in anderen Phosphatiden.

a) Phosphatide aus Eidotter. Ausser dem Lecithin konnten wir auch eine in Alkohol schwer lösliche und eine in Alkohol unlösliche Phosphatidfraktion aus Eiern auf ihren Gehalt an Glycerin- β -phosphorsäure prüfen. Die Verseifung beider Präparate geschah in der üblichen Art durch Schütteln mit ca. 10-proz. Barytwasser bei Zimmertemperatur. Die rohen Bariumsalze der Glycerin-phosphorsäuren bildeten rein weisse, amorphe Pulver. Dasjenige aus der Alkohol-unlöslichen Phosphatidfraktion („Sphingomyelin“) besass den Phosphorgehalt von 10,2% (Theorie 10,05), jenes aus dem in Alkohol schwer

löslichen Phosphatidanteil („Kephalin“) war weniger einheitlich und führte nur 8,5% Phosphor.

Je 1 gr dieser Bariumsalze wurde in 10 cm³ Wasser gelöst und mit der Auflösung von 0,4 gr Bariumnitrat in 10 cm³ Wasser vereinigt. Schon nach wenigen Augenblicken begann die Krystallisation des Doppelsalzes von Barium- β -glycero-phosphat und Bariumnitrat; es wurde nach 12-stündigem Stehen abgenutscht, mit 4 cm³ Wasser, hierauf mit Alkohol und Äther ausgewaschen. Seine Menge betrug:

0,84 gr aus dem Barium-glycero-phosphat, das dem alkoholunlöslichen Phosphatid entstammte;

0,44 gr aus dem Barium-glycero-phosphat, das dem alkoholschwerlöslichen Phosphatid entstammte.

Wenn man berücksichtigt, dass in den 20 cm³ Mutterlauge ca. 0,2 gr Doppelsalz gelöst bleiben, so darf der Gehalt an Glycerin- β -phosphorsäure in der alkoholunlöslichen Phosphatidfraktion im Minimum auf ca. 70%, in der alkohol-schwerlöslichen Fraktion auf mindestens 45% veranschlagt werden (1 gr Barium-glycero-phosphat gibt 1,42 gr Doppelsalz mit Bariumnitrat).

b) Glycerin-phosphorsaures Barium aus Gehirn-phosphatiden gab mit Bariumnitrat ebenfalls reichliche Abscheidung der Doppelverbindung; es enthält somit ebenfalls Glycerin- β -phosphorsäure.

c) Ein aus Erbsenmehl extrahiertes Phosphatid lieferte bei der Baryt-Verseifung ein stark rechtsdrehendes rohes Bariumsalz (0,5 gr gelöst in 10 cm³ H₂O $\alpha_D = +2,2^0$). Es muss daher noch andere, stark optisch aktive Begleiter enthalten. Auch sein Aussehen deutet darauf hin; es bildet eine hygroskopische, gelbe, amorphe Masse. Da es uns zunächst nur darauf ankam, die Anwesenheit der Glycerin- α -phosphorsäure und Glycerin- β -phosphorsäure darin nachzuweisen, haben wir auf eine weitere Reinigung des Bariumsalzes — die ein Studium für sich bildet — verzichtet.

Den Gehalt an Glycerin- β -phosphorsäure stellten wir durch die Bariumnitrat-fällung fest: aus 1,0 gr rohem Barium-glycero-phosphat entstanden 0,22 gro Doppelsalz; die β -Säure findet sich somit im unreinen Barium-glycero-phosphat mindestens zu 30%. — Aber auch die Glycerin- α -phosphorsäure kommt darin vor. Das bewiesen wir dadurch, dass wir aus dem rohen Bariumsalz mit Silbernitrat das Silber-glycero-phosphat (natürlich unrein, vermengt mit anderen Salzen) fällten und es mit Methyljodid in der bekannten Weise methylierten. Hierbei entstand der Dimethylester des Glycerin-phosphorsäure-dimethyläthers, der sich durch Destillation rein, mit den bekannten, vorbeschriebenen Eigenschaften abtrennen liess.

Es war optisch aktiv, $[\alpha]_D^{20} = -2,42^0$ (in Alkohol). Somit enthält er erhebliche Mengen der von der Glycerin- α -phosphorsäure sich ableitenden Verbindung, deren Vorkommen in den Erbsen-phosphatiden damit sichergestellt ist.

Röhre, füllten Schwefelsäure und abgespaltene Phosphorsäure durch Barytwasser aus, schieden das überschüssige Bariumhydroxyd mittels Kohlendioxyd ab und dampften nach der Filtration die Lösung auf dem Wasserbad zum Sirup ein. Dieser verwandelte sich beim Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd in eine halb feste, klebrige Masse, die im wesentlichen aus dem Dimethyläther des glycerin-phosphorsauren Bariums bestand. Sie wurde, um allfällig gebildeten Glycerin-dimethyläther auszuziehen, mit viel Äther extrahiert. Nach dem Verdampfen desselben blieben indessen nur wenige Tropfen einer in Äther schwer löslichen, optisch inaktiven, viskosen Flüssigkeit zurück, die als Glycerin identifiziert wurde. Die geringe Abspaltung von Phosphorsäure aus dem Dimethylester des Glycerin-phosphorsäure-dimethyläthers war also ausserdem mit einer Verseifung der Methoxylgruppen verbunden.

5. Versuche, die Hydrolyse des Esters bezw. die Abspaltung des Phosphorsäurerestes durch Erhitzen mit 20-proz. und stärkerer Salpetersäure auf dem Wasserbad zu bewirken, waren gleichfalls erfolglos. Die optische Aktivität des Esters blieb erhalten.

6. Wie zu erwarten war, gelingt es auch nicht, den Phosphorsäurerest aus dem Ester durch Kochen mit 20-proz. Natronlauge zu entfernen. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass trotz der mehrstündigen Laugenbehandlung bei Temperaturen über 100° die Verbindung ihre optische Aktivität nicht verlor.

Bariumsalz des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers



Dieses Salz haben wir bei Gelegenheit der Hydrolyse eines optisch aktiven Dimethylesters des Glycerin-phosphorsäure-dimethyläthers ($[\alpha]_{\text{D}} = -2,63^\circ$), die mit 5-proz. Salzsäure durch 24-stündiges Erhitzen im Bombenrohr bewirkt worden war, auf folgende Weise gewonnen:

Die hydrolysierte Lösung wurde zur Entfernung der Salzsäure und der freien Phosphorsäure mit Silbercarbonat geschüttelt, hierauf filtriert, mit Schwefelwasserstoff behandelt, vom ausgefallenen Silbersulfid durch Filtration befreit und mit Barytwasser curcuma-alkalisch gemacht. Den überschüssigen Baryt schlug man durch Einleiten von Kohlendioxyd nieder, filtrierte und dampfte das klare Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockne ein. Nachdem der Rückstand in wenig heissem Wasser gelöst, die Lösung nochmals filtriert und auf ein kleines Volumen konzentriert worden war, krystallisierte in der Kälte nach einigem Stehen ein weisses Bariumsalz aus, das mit 50-proz. Alkohol ausgewaschen und hernach aus heissem 50-proz. Alkohol umkrystallisiert wurde. Es bildet glänzende Blättchen, ist in heissem Wasser spielend löslich, etwas schwerer in kaltem und krystallisiert aus 50-proz. Alkohol mit 1 Mol. Krystallwasser.

Nach der Analyse liegt das Bariumsalz eines Glycerin-phosphorsäure-dimethyläthers vor, und zwar leitet es sich, da es optisch aktiv ist, von der Glycerin- α -phosphorsäure ab. Dass ihm möglicherweise noch etwas β -Salz beigemischt ist, können wir nicht mit Sicherheit ausschliessen; die vollkommen einheitlich aussehenden, schönen Krystallblätter machen aber eine Inhomogenität wenig wahrscheinlich. Übrigens enthielten die Mutterlaugen, aus denen dieses Salz auskrystallisiert war, eine anscheinend leichter lösliche Verbindung, die nicht krystalli-

sierte und vielleicht das entsprechende β -Salz enthielt. Da sie aber von dem gleichfalls sehr leicht löslichen krystallisierten Bariumsalz des Glycerin- α -phosphorsäure-dimethyläthers nicht völlig getrennt werden konnte, wurde sie nicht weiter untersucht.

0,1123 gr Subst. verloren bei 90° im Vakuum über Phosphorpentoxyd 0,0554 gr H₂O.

C₅H₁₁O₆PBa + H₂O Ber. H₂O 5,01% Gef. H₂O 5,02%

0,1910 gr wasserfreie Subst. gaben 0,1322 gr BaSO₄

0,2758 gr wasserfreie Subst. gaben 0,0924 gr Mg₂P₂O₇

C₅H₁₁O₆PBa Ber. P 9,25 Ba 40,97%

Gef. „ 9,34 „ 40,75%

Polarisation des exsikkatortrockenen Salzes in Wasser:

0,3046 gr Subst.; Gesamtgewicht der Lösung 10,8466 gr; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,083^\circ$.

$[\alpha]_D^{20}$ für wasserfreies Salz berechnet = $+3,11^\circ$.

Zürich, Chemisches Laboratorium der Universität.

Die Spaltung der Glycerin- α -phosphorsäure in optisch aktive Formen

von P. Karrer und P. Benz.

(29. XII. 25.)

Die in der vorstehenden Arbeit mitgeteilten Erfahrungen über die natürlich im Lecithin vorkommenden Glycerin-phosphorsäuren liessen es wünschenswert erscheinen, die synthetisch gewonnene Glycerin- α -phosphorsäure in ihre aktiven Formen zu zerlegen.

Mit Hilfe des Chininsalzes der Glycerin- α -phosphorsäure, die wir aus Acetonglycerin synthetisch darstellten, ist die Spaltung verhältnismässig leicht geglückt. Wir haben das Chininsalz mehrmals aus heissem Wasser, worin es recht schwer löslich ist, umkrystallisiert, die schwerst löslichen Anteile hierauf durch Bariumhydroxyd zerlegt und das dadurch entstandene glycerin-phosphorsaure Barium krystallisiert abgetrennt. Dessen 2-proz. Lösung erwies sich im 2-dm-Rohr als vollkommen inaktiv; da wir in unserem Polarisationsapparat Drehungswinkel von 0,02° noch mit Sicherheit erkennen können (die Fehlergrenze beträgt eigentlich bloss 0,01°), so dürfen wir daraus den Schluss ziehen, dass das untersuchte Bariumsalz zum mindesten eine tiefere spez. Drehung als 0,5° gehabt haben muss.

Stellte man nun aus dem Bariumsalz in der Weise, wie es in der voranstehenden Abhandlung beschrieben wurde, das Silbersalz her, und methylierte dieses mit Methyljodid und Silberoxyd, so wurde der linksdrehende Dimethylester des Glycerin-phosphorsäure-dimethyläthers

