

Synthetisches Distearoyl- $\alpha$ -kephalin.

$C_{41}H_{82}O_5NP$ . Ber. C 65.81, H 11.06, N 1.87.  
 Gef. „ 67.26, 67.33, „ 12.90, 12.92, „ 1.98, 1.94.

Verhalten gegen Lösungsmittel.

	Distearoyl- $\alpha$ -kephalin	$\alpha$ -Kephalin- CdCl <sub>2</sub>	$\alpha$ -Kephalin Pb-Salz
Chloroform.....	leicht löslich	löslich	löslich
Äther.....	schwer löslich	unlöslich	unlöslich
Alkohol, kalt.....	unlöslich	unlöslich	unlöslich
Alkohol, heiß.....	schwer löslich	--	—
Methylalkohol, kalt.....	unlöslich	—	—
Methylalkohol, heiß.....	schwer löslich	—	--
Benzol.....	löslich	—	—
Aceton.....	unlöslich	unlöslich	unlöslich
Essigsäuremethylester ...	unlöslich	--	—
Äther + Alkohol.....	—	—	löslich
Wasser.....	quillt, gelbbraune Flocken	—	---

Im allgemeinen sind die Verbindungen der  $\alpha$ -Form schwerer löslich als diejenigen der  $\beta$ -Form.

Methylierung von Distearoyl- $\alpha$ -kephalin: 1.1 g Distearoyl- $\alpha$ -kephalin wurden mit 25 g Methyljodid, 10 ccm Methanol und 20 ccm Benzol im geschlossenen Rohr 128 Stdn. auf 100—120° erhitzt. Das Reaktionsprodukt, das für  $\alpha$ -Kephalin-trimethylammoniumjodid gehalten wird, ist beinahe unlöslich in Wasser und allen anderen Lösungsmitteln. Ausb. 0.3 g. Phosphor und Jod wurden qualitativ nachgewiesen.

**172. I. Kabashima: Die Synthese von Phosphatiden, III. Mittell.: Synthese von natürlichem Lysolecithin.**

[Aus d. Institut d. Kaiserl. Erfindungsvereins Tokio.]  
 (Eingegangen am 9. Februar 1938).

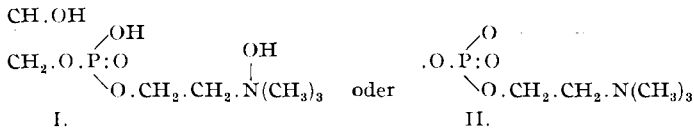
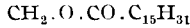
In der II. Mitteilung<sup>1)</sup> wurde über die Synthese von Distearoyl- $\alpha$ -kephalin berichtet. Ich stellte fest, daß bei der Einwirkung von Pankreatin oder Schlangengift auf Distearoyl- $\alpha$ -kephalin kein hämolytisch wirkender Stoff entsteht.

Um den Erfolg meiner Phosphatid-Synthese zu beweisen, habe ich nun Lysolecithin dargestellt, das bei der Einwirkung von Schlangengift oder Pankreatin auf Eigelb-Lecithin entsteht und von Iwata<sup>2)</sup> aus poliertem Reis isoliert wurde. Die hämolytische Wirkung des synthetischen wurde mit derjenigen des natürlichen Produkts verglichen.

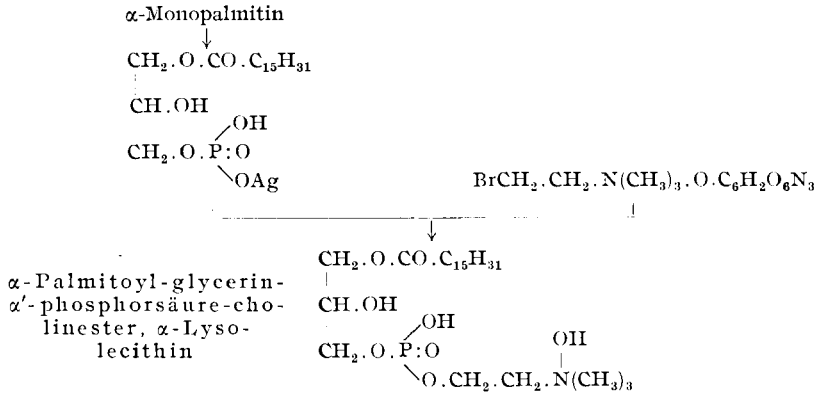
Dem Lysolecithin wird die Konstitution eines  $\alpha$ -monopalmitoyl-glycerin- $\alpha'$ -phosphorsäuren Cholinesters zugeschrieben. Je nach dem Trocknungszustand des Materials kommt Formel I oder II in Frage.

<sup>1)</sup> B. 71, 1071 [1938].

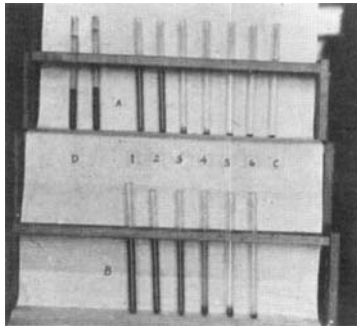
<sup>2)</sup> Biochem. Ztschr. 224, 430 [1930].



Die Synthese von Lysolecithin führte ich auf folgendem Wege aus:



Die hämolytische Wirkung des synthetischen Produkts wurde verglichen mit der des Lysolecithins, das von Nikuni durch Einwirkung von Pankreatin auf Eigelblecithin dargestellt wurde<sup>3)</sup>. Das synthetische Produkt zeigte gegenüber dem natürlichen eine etwas geringere hämolytische Wirkung, wofür zwei Umstände verantwortlich gemacht werden können. Einmal ist bei der Darstellung des Silbersalzes der  $\alpha$ -Palmitoyl-glycerin- $\alpha$ -phosphorsäure das Auftreten des entsprechenden Glycerin- $\beta$ -phosphats möglich, so daß auch  $\beta$ -Lysolecithin beigemischt sein kann.



Hämolytische Wirkung von synthetischem (A) und von Eigelb-Lysolecithin (B).

Außerdem besitzt  $\alpha$ -Lysolecithin ein asymmetrisches C-Atom. Diese Verhältnisse erfordern jedoch weitere Untersuchung.

Immerhin beweist die Darstellung des Lysolecithins die Richtigkeit meiner Methode zur Synthese von Phosphatiden.

Es bleibt noch die Frage nach dem Bildungsmechanismus von Lysolecithin bei der Einwirkung von Pankreatin auf Lecithin zu beantworten. Man nimmt an, daß das Enzym eine im Lecithin vorhandene ungesättigte Fettsäure abspaltet. Der Beweis dafür soll später erbracht werden durch Einwirkenlassen des Enzyms auf ein synthetisches Lecithin, das sich von Lysolecithin durch Vereinigung mit einer ungesättigten Fettsäure ableitet.

<sup>3)</sup> Proceed. Imp. Acad. Tokyo 8, 300 [1932] (C. 1932 II, 2475).

Außerdem soll untersucht werden, ob in bezug auf die Ernährung Unterschiede zwischen Lecithinen mit gesättigten und ungesättigten Fettsäuren bestehen.

In weiteren Versuchen soll festgestellt werden, welcher Teil des Moleküls für die hämolytische Wirkung verantwortlich ist, und ob die hämolytische Wirkung auch der fettsäurefreien Substanz zukommt.

### Beschreibung der Versuche.

$\alpha$ -Monopalmitin: Die Darstellung aus Acetonglycerin über Palmitoyl-acetonglycerin erfolgte nach E. Fischer und Mitarbeitern<sup>4</sup>). Schmp. 78—79°.

$\alpha$ -Palmitoyl-glycerin- $\alpha'$ -phosphorsaures Silber: Eine in Kältemischung gekühlte Lösung von  $\text{POCl}_3$  in Chinolin versetzte man tropfenweise unter Schütteln mit  $\alpha$ -Monopalmitin in Chinolin-Chloroform. Nach 1-stdg. Stehenlassen bei 0° goß man das Gemisch in eisgekühlte verd. Schwefelsäure und schüttelte mit Chloroform aus. Die Chloroformschicht wurde mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, der Rückstand in Alkohol gelöst und das Reaktionsprodukt mit Wasser gefällt. Die  $\alpha$ -Palmitoyl-glycerin- $\alpha'$ -phosphorsäure löste man in Alkohol, neutralisierte mit alkohol. Kalilauge und fällte mit alkohol. Silbernitrat-Lösung. Das ausgefallene Silbersalz wurde nacheinander mit Wasser, Alkohol und Aceton gewaschen und getrocknet. Aus 50 g  $\alpha$ -Monopalmitin wurden 22.6 g Silbersalz erhalten.

Lysolecithin: Je 10 g Bromcholinpikrat und  $\alpha$ -palmitoyl-glycerin- $\alpha'$ -phosphorsaures Silber wurden im geschlossenen Rohr mit einer Mischung von Chloroform und Aceton (1:2) 38 $\frac{1}{2}$  Stdn. auf 100° erhitzt und das Filtrat vom Silberbromid eingedampft. Man löste den Rückstand in Aceton und ließ darauf einige Zeit alkohol. Ammoniak einwirken; dabei schied sich das Lysolecithin ab, das nacheinander mit Aceton und Äther aus alkohol. Lösung gefällt und aus Alkohol umkrystallisiert wurde. Weiße Nadeln, bei nochmaligem Umkrystallisieren aus Alkohol hexaëdrische Säulen.

Zur Bestimmung des Schmelzpunktes wurde das Präparat aus Alkohol-Chloroform 1:1 umkrystallisiert und bei 78° im Vak. getrocknet. Synthetisches Lysolecithin sintert bei 109°, wird bei 130—150° durchsichtig und trübt sich weiß gegen 209°; bei 260° entsteht eine durchsichtige braune Schmelze, die sich bei 262° unter Schäumen zersetzt.

Das von Nikuni durch Einwirkung von Pankreatin auf Eigelblecithin dargestellte und von Iwata aus poliertem Reis isolierte Lysolecithin sintert bei 95° und zersetzt sich bei 262—263°. Synthetisches Lysolecithin ist löslich in Chloroform, Pyridin, Alkohol und Methanol, unlöslich in Aceton und Äther.

$\text{C}_{24}\text{H}_{52}\text{O}_8\text{NP}$ . Ber. C 56.09, H 10.21, N 2.73.

$\text{C}_{24}\text{H}_{50}\text{O}_7\text{NP}$  (Anhydrid). Ber. C 58.13, H 10.17, N 2.93.

Gef. „ 58.48, „ 11.57, „ 3.02, 3.08.

Hämolytische Wirkung: Die Anordnung der Prüfung zeigt die Abbildung. D stellt die verwendete 43-proz. Aufschwemmung in Pferde-

<sup>4</sup>) E. Fischer, M. Bergmann u. H. Bärwind, B. 53, 1603 [1920].

serum dar, Reihe A die hämolytische Wirkung von synthetischem, Reihe B von Eigelb-Lysolecithin, und zwar in den Konzentrationen:

$$1 \quad 2 \quad 3 \quad 4 \quad 5 \quad 6 \\ 5.53 \times 10^{-4} \quad 2.7 \times 10^{-4} \quad 1.35 \times 10^{-4} \quad 0.675 \times 10^{-4} \quad 0.3375 \times 10^{-4} \quad 0.1687 \times 10^{-4}.$$

C ist der Standard-Ansatz.

Wie man sieht, beginnt die hämolytische Wirkung beim synthetischen Lysolecithin bei einer Konzentration von  $1.35 \times 10^{-4}$ , beim Eigelb-Lysolecithin bei  $0.3375 \times 10^{-4}$ .

### 173. Karl Heinrich Slotta und Heinz Ludwig Fraenkel-Conrat: Schlangengifte, III. Mittel.: Reinigung und Krystallisation des Klapperschlangen-Giftes.

[Aus d. Chem. Abteil. d. Instituto Butantan, São Paulo, Brasilien.]

(Eingegangen am 11. April 1938.)

Als wir mit Anreicherungsversuchen des Klapperschlangen-Giftes (*Crotalus t. terrificus*) angingen, benutzten wir bei 37° getrocknete ältere Sammelpräparate des Instituts mit Giftwerten<sup>1)</sup> von 1200—1700. Durch verschiedene Koagulations- und Fällungsmethoden gelang es uns verhältnismäßig leicht, dieses schwach gelblich verfärbte Rohgift von unwirksamen Begleitsubstanzen zu befreien und ein farbloses Produkt mit einem GW von etwa 2500—3000 zu erhalten, das in keiner Weise weiter angereichert werden konnte. Da wir die Möglichkeit hatten, größere Mengen ganz frischen Giftsekrets zu erhalten, haben wir dieses im gefrorenen Block im Hochvakuum zur Trockne gebracht, wobei 20% eines schneeweißen Trockengiftes vom GW 2000 erhalten wurden. Dieses Gift ließ sich mit den Methoden, die sich bei den älteren Präparaten schon als die besten bewährt hatten, auch nur bis auf den GW von 2500—3000 anreichern. Wir haben mit Alkohol und Aceton in ähnlicher Weise wie H. Wieland<sup>2)</sup> beim Naja-Gift Fraktionierungen ausgeführt, haben mit Ammoniumsulfat in üblicher Weise getrennt und auch bei verschiedenen Säurestufen zwischen p<sub>H</sub> 4—6, also in der Nähe des isoelektrischen Punktes dieser giftigen Proteine, fraktionierte Fällungen vorgenommen. Auch unter noch so vorsichtigen Bedingungen erhielten wir kein Präparat mit einem über 3000 liegenden GW, wobei die einzelnen Fraktionen jedes Versuches schließlich unter sich gleich wirksam waren.

Auf Grund dieser Erfahrung lag es nahe, anzunehmen, daß das Klapperschlangen-Gift von Natur aus zu ungefähr zwei Dritteln aus einem einheitlichen, giftigen Protein besteht. Um die das wirksame Prinzip des *Crotalus*-Giftes begleitenden Eiweißsubstanzen zu entfernen, fanden wir vor allem zwei Wege geeignet: Das flüssige Rohsekret oder das wie oben beschrieben vorsichtigst eingedampfte Rohgift wird 10 Min. in einer Lösung von p<sub>H</sub> 4.1 auf 70° erhitzt, wobei nur neurotoxisch unwirksames Protein koagulierte. Die Lösung wird auf p<sub>H</sub> 4.6—5.0 gebracht, wobei 40—50% des Trockengiftes als wirksames Protein ausfallen. Durch Zusatz von Alkohol kann

<sup>1)</sup> K. H. Slotta u. G. Szyszka, B. 71, 258 [1938].

<sup>2)</sup> H. Wieland u. W. Konz, Sitz.-Ber. math.-nat. Abt. bayr. Akad. Wiss. 1936, S. 177.