

# Ueber eine neue Methode, das Gehirn chemisch zu erforschen, und deren bisherige Ergebnisse.

Von

**F. Baumstark.**

Ausserordentlicher Professor zu Greifswald.

---

(Der Redaktion zugegangen am 20. November 1884.)

---

## I.

### Vorbereitende Versuche.

Seit längerer Zeit habe ich mich mit der Untersuchung der Gehirnmasse beschäftigt und bin nach und nach zu einzelnen bemerkenswerther erscheinenden Ergebnissen gekommen, die ich im Folgenden mittheile. Wenn auch die begonnene Untersuchung noch nicht vollendet ist, so wage ich es dennoch, mit den bis jetzt gewonnenen Resultaten hervortreten, welche zu einem gewissen Abschluss gelangt sind; doch hoffe ich bald weitere Mittheilungen machen zu können, wenn der nächste Winter uns noch eine Reihe kälterer Tage bringt.

Ursprünglich hatte ich mir nur als Ziel vorgesetzt, zu erforschen, ob die «Cerebrin» genannte phosphorfreie, glycosidartige Verbindung als solche im Gehirne präexistire oder ob dieselbe als ein Spaltungsprodukt des phosphorhaltigen Protagons aufzufassen sei, welches Letzteres dann die eigentliche ursprüngliche Gehirnsubstanz bilden würde.

Ich glaube zur Klarstellung dieser wichtigen Frage, wie das Weitere zeigen wird, Einiges beigetragen zu haben; sie ist aber mit der Zeit für mich eine fast nebensächliche geworden, indem sich mit der fortschreitenden Untersuchung

nach dieser Richtung hin anderweite Beobachtungen und Erfahrungen aufdrängten, die ganz neue Gesichtspunkte für manche davon ferner liegende Theile des Chemismus des Gehirnes eröffneten, wenn sie auch ursächlich in nächster Beziehung wieder zu der ersten Frage standen.

Es drängte sich vor Allem die Frage auf: Aus welchen Gründen besitzen wir so wenig allgemein als positiv wahr anerkannte Forschungsergebnisse über ein so vor allen anderen wichtiges Organ, wie das Gehirn es ist, trotzdem eine grosse Anzahl der bedeutendsten Forscher sich eingehendst mit demselben beschäftigt haben? Ich konnte einen Grund nur in bisher nicht zu überwindenden praktischen Schwierigkeiten finden.

Zunächst schien mir eine wesentliche Ursache für die Unklarheit, in der wir uns über die Gehirnstoffe befinden, darin zu liegen, dass für die erste Scheidung derselben keine genügend einfache Methode bis jetzt existire. Ich bemerke hier, dass ich nur diejenigen Verbindungen Gehirnstoffe nenne, welche als ursprünglich im Gehirn vorkommende aufzufassen sind, und nicht etwa von diesen derivirende einfachere Körper: Es würde meiner Benennung nach ein Gehirnstoff also das Protagon sein, wenn es wirklich als Verbindung existirt; nicht aber das sogenannte Cerebrin, es sei denn, dass auch dessen selbstständiges Vorkommen neben dem des Protagon erwiesen würde.

Das Gehirn, so complicirt wie kein anderes Organ chemisch zusammengesetzt, zeichnet sich aus durch seinen einzig dastehenden Gehalt an nur in Aether oder Alkohol löslichen Verbindungen. Zu den allein in Alkohol löslichen kann man nur gut gelangen, wenn man die in Aether löslichen zuvor entfernt hat. Nun bereitet aber ein Gehirnbrei schon allein bei der einfachen mechanischen Trennung des in Aether Gelösten von dem im Wasser Löslichen schwer zu überwindende praktische Schwierigkeiten. Dass ferner eine wässrige Anreibung der Gehirnmasse eine kaum filtrirbare Emulsion wegen des Quellungsvermögens einzelner Gehirnbestandtheile bildet, ist bekannt genug. Selbst bei



Kochtemperatur findet nur schwierig und langsam Coagulation des Festen statt, so dass auf diesem Wege kaum an eine Trennung des Flüssigen vom Festen zum Zwecke einer Aetherextraktion ohne tiefer eingreifende Zersetzung zu denken ist.

Dieser Schwierigkeit, das Feste von dem Flüssigen zu trennen, suchten Liebig, v. Gorup-Besanez, Müller durch Gypswasser, Barytwasser, Bleizuckerlösung, also Reagenzien, die entschieden von eingreifendster Wirkung auf manche Gehirnbestandtheile sein mussten (besonders in höherer Temperatur) zu begegnen. Ein solcher Eingriff ist aber unter allen Umständen zu vermeiden, wenn man einen sicheren Ueberblick über alle ursprüngliche Gehirnbestandtheile womöglich in einem und demselben Gehirne gewinnen will.

Um dies Problem zu lösen, galt es also, eine neue bessere Methode der Trennung der Gehirnbestandtheile zu erproben, die ohne Anwendung von eingreifenden Agentien diesen Zweck zu erreichen suchte und womöglich eine leichte Beseitigung des Wassers, ohne eine coagulirende Wirkung, wie sie der Alkohol z. B. auf Eiweisskörper besitzt, gestattete.

Dass dieses wenigstens zum Theil gelungen und dadurch die festen Eiweisskörper des Gehirns leichter wie früher zugänglich geworden sind, wird das Folgende zeigen.

Eine weitere Ursache für viele Unklarheiten schien mir dann in der Art und Weise zu liegen, wie der als Extraktionsmittel nicht zu umgehende Alkohol angewandt worden ist. Bereits Berzelius<sup>1)</sup> warf bei Besprechung der Auffindung des Cholesterins durch Gmelin im Gehirn die Frage auf: Findet es sich schon fertig gebildet oder bildet es sich erst durch Einwirkung des Alkohols? Er hielt letzteres für wahrscheinlicher und warnt damit indirekt davor, bei der Untersuchung derartiger Organe zuviel der Unschädlichkeit der angewandten Reagentien zu trauen.

Fast alle Gehirnuntersucher von Couerbe, Vauquelin, Lassaigne, Gmelin, Frémy, v. Bibra, Müller bis Parcus haben den Fehler begangen, dass sie nicht

<sup>1)</sup> Jahresbericht übersetzt von Wöhler 1827, S. 280.

schonend genug in dieser Beziehung bei der Isolirung der Bestandtheile verfahren. Sie haben alle mit zu starkem Alkohol und dann in zu hoher Temperatur das Gehirn extrahirt und zwar meistens, nachdem es nur mangelhaft mit Aether erschöpft war. Dadurch wurden viele Zersetzungsprodukte der ursprünglichen im Gehirn vorhandenen Verbindungen in die weitere Arbeit gebracht. Man darf sich deshalb nicht wundern, wenn immer neue, interessante sogenannte Gehirnstoffe entdeckt wurden. Sie werden aber erst dann ihrer Bedeutung entsprechend richtig geschätzt werden können, wenn man genau die Quellen kennt, aus denen sie stammen, und die Bedingungen, unter welchen sie aus diesen hervorgegangen sind.

Unter allen Umständen wird man aber bei diesen Untersuchungen gezwungen sein zur Gewinnung einzelner Stoffe eine erhöhte Temperatur anzuwenden. Es würde aber verfehlt sein, auf die Präexistenz einer Verbindung zu schliessen, wenn man dieselbe aus einem (besonders wasserhaltigen) Gemenge bei Kochtemperatur erhalten hat. Man muss durchaus möglichst nahe der Körperwärme bleiben: vor Allem bei der ersten Isolirung einer Verbindung aus einem Gemenge, wie es gerade dieses Organ darbietet. Bei der weiteren Reindarstellung kann man in der Regel schon bei etwas höherer Temperatur vorgehen.

Nur Liebreich und Blankenhorn & Gamgee haben diesen Fehler der Anwendung zu hoher Temperaturen vermieden und darum auch andere und zwar einfachere Resultate erreicht, wie die meisten anderen Untersucher. Es ist also durchaus nothwendig, um auf die ursprünglichen Gehirnstoffe zu kommen:

1. Das Wasser des Gehirns vor Allem vollständig zu entfernen;
2. Den Aetherextrakt danach vor der Alkoholextraktion ganz zu beseitigen;
3. Nicht zu starken Alkohol, und
4. In nicht zu hoher Temperatur anzuwenden.



Aus dem im Vorigen Erörterten ist ersichtlich, warum nothwendiger Weise die quantitativen Gesamtanalysen des Gehirns nur mit einiger Sicherheit über die grössten Gruppen der Bestandtheile, als da sind: Wasser-, Aether-, Alkohol-Extrakt und das in diesen Mitteln Unlösliche Auskunft geben konnten. Während die älteren Analysen von Vauquelin<sup>1)</sup> und Lasseigne<sup>2)</sup> sich in diesen Grenzen bewegen, beschränken sich die vielen Bestimmungen von Schlossberger, Walther-Hauff und von Bibra nur auf das Wasser, das Feste und das sogenannte Gehirnfett zum Zwecke der Vergleichung der verschiedensten Gehirne unter den verschiedensten Lebensbedingungen unter einander.

Erst in neuerer Zeit wurden Analysen von Petrowsky<sup>3)</sup> und Gobley<sup>4)</sup> ausgeführt, in denen die Gehirnfette zerlegt wurden in Cholesterin, Lecithin, Cerebrin u. s. w. und die Eiweisskörper in lösliche und unlösliche.

Ersterer aber rechnete zum Cerebrin Alles, was in Alkohol und nicht in Aether löslich war. Das in Aether Lösliche gab, nachdem das aus dem gefundenen P berechnete Lecithin abgezogen, die Summe von Cholesterin und Fett. Nichts aber berechtigt dazu, allen P im Lecithin anzunehmen. Er machte auch den Versuch, das unlösliche Eiweiss von den anderen in Alkohol und Aether nicht löslichen Stoffen durch Magensaft quantitativ zu trennen.

Wie die Bestimmungen Gobley's ausgeführt sind, ist mir aus den mir zugänglichen Angaben nicht ersichtlich. Das mitgetheilte Resultat<sup>5)</sup> scheint mir mehr ein Mittel aus vielen verschiedenen Analysen, als das Resultat einer einheitlichen zu sein. Er bestimmte allerdings das lösliche Eiweiss, aber das unlösliche warf er, wie mir scheint, mit dem Neurokeratin Kühne's und dem Nuclein zusammen und berechnet es als «Cephalin».

1) Annales de chimie, T. 81. p. 37.

2) Jahresbericht 1837, S. 371.

3) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. VII, S. 367.

4) Archiv für Pharmacie, [3], Bd 10, S. 445.

5) Chemisches Centralblatt 1877, S. 480 und 1874, S. 599.

Bourgoin<sup>1)</sup> bestimmte ebenfalls das lösliche Eiweiss gesondert.

Ich habe während mehrerer Winter mich bemüht, eine Methode zu finden, welche, soweit irgend es die Eigenschaften der einzelnen Gehirnbestandtheile erlauben, ohne Anwendung weiter eingreifender Agentien, als es Aether und Alkohol sind, und bei einer die Körperwärme nicht übersteigenden Temperatur, eine Trennung der hauptsächlichsten Bestandtheile gestatte, und sie möglichst intakt zur weiteren Untersuchung liefere. In folgendem Verfahren glaube ich diesen Weg gefunden zu haben; zugleich habe ich aber auch den Versuch gemacht, die Andeutungen, welche in demselben gegeben sind, zu einer quantitativen Erforschung des Gehirns nutzbar zu machen<sup>2)</sup>.

Wenn man ein Gehirn oder ein Stück davon in gewöhnlichen käuflichen Aether bringt, so dringt allmählig der Aether in die Gehirnmasse ein und verdrängt dafür die wässrige Flüssigkeit derselben mit dem, was in ihr gelöst ist. Bei diesem Vorgange nimmt der Aether nach und nach Alles, was in ihm löslich ist auf, während er dasjenige was in Wasser und Aether unlöslich, aber in Alkohol löslich ist und das auch in Alkohol Unlösliche unverändert zurücklässt.

Schon Couerbe<sup>3)</sup> sagt in seiner Abhandlung «Das Gehirn in chemischer und physiologischer Hinsicht»: Die

1) Zeitschrift für Chemie, 1866, S. 608.

2) Ich muss bemerken, dass diese Methode unabhängig von den Beobachtungen Struves, welche veröffentlicht sind im Journal für prakt. Chemie, Bd. 27, S. 231 (das Heft ist geschlossen den 20. Januar 1883) gefunden wurde und früher schon von mir selbstständig zur Untersuchung der Gehirnmasse angewendet wurde. Ich habe über dieselbe mit Vorlegung einschlägiger Präparate bereits im Greifswalder medicinischen Verein am 2. Dezember 1882 (Referat ist abgedruckt in der deutschen medicinischen Wochenschrift Nr. 18, 1883) einen eingehenden Vortrag gehalten; derselbe war für die Sitzung dieses Vereins am 10. Juni 1882 bereits angekündigt, wurde aber wieder wegen Fülle von Material abgesetzt. Doch legte ich damals schon sich besonders dafür interessirenden Herren die oben erwähnten Präparate vor.

3) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 13, S. 222.



erste Behandlung des Gehirns mit Aether lieferte eine wenig Fett enthaltende Auflösung: es schien, als wenn der Aether sich darauf beschränkt hätte, die Feuchtigkeit des Gehirns auszuschneiden, welche, indem man den Aether abgoss, zugleich mit abfloss. Die zweite Behandlung lieferte eine an Fett reichere Lösung, die nur Spuren von Feuchtigkeit enthielt.»

Es liess sich annehmen, dass hier eine eigenthümliche Erscheinung der Dialyse vorliege, beruhend auf dem gegenseitigen Lösungsvermögen zwischen Aether und Wasser.

Einige nach dieser Richtung hin unternommene Versuche bestätigten diese Ansicht vollständig.

Diese Versuche wurden, um mit der Erscheinung am Gehirne möglichst analoge Verhältnisse zu gewinnen, mit Diffusionsapparaten angestellt, deren Membran gut mit Aether entfetteter thierischer Darm bildete. Ein Stück solchen Darmes wurde einfach an einem Ende zugebunden und, nachdem es sich mit Wasser gefüllt, längere Zeit freihängend als wasserdicht erwiesen, in die Versuchsflüssigkeit gehängt und während 24 Stunden beobachtet.

Spätere Versuche zeigten, dass die beobachtete Erscheinung nicht eine der thierischen Zelle oder Haut etwa eigenthümliche ist, sondern dass mit Pergamentpapier ganz dasselbe erreicht werden kann.

Als Diffusionsapparat diente, um jede Verdunstung der leicht flüchtigen Substanzen zu vermeiden, und um doch unabhängig vom Drucke in geschlossenen Gefässen zu sein, folgender Apparat. Ein weithalsiges Pulverglas von 200 cbcm. Inhalt mit Korkstöpsel trägt in diesem zwei gerade so weite Röhren, dass man eine dünn ausgezogene Trichterröhre einführen kann. Von diesen Röhren ragt die eine frei unter dem Korke heraus, während die zweite eine durchbohrte Korkscheibe an ihrem unteren Ende trägt. An diese Korkscheibe wird das offene Ende des Darmes gebunden und dann der ganze Kork auf die Flasche gesetzt. Durch die eine Röhre füllt man die Flasche, durch die andere den Darm und verbindet dann die oben herausragenden Enden

der Glasröhre durch ein Stück Gummischlauch. So stehen beide Diffusionsräume immer unter dem gleichen Luftdruck und Verdunstung wird vermieden. Zur Füllung des Apparates wurden jedesmal 150 ccm. Flüssigkeit für das äussere Gefäss und etwa 40 ccm. für den Darm angewendet.

### Versuche.

1. Der Darm mit Wasser gefüllt und in Benzol- oder Petroleumäther gehängt, lässt kein Wasser durchtreten. Die beiden Flüssigkeiten bleiben ganz klar und es sammelt sich am Boden des Gefässes kein Wasser an.
2. Fügt man dem Benzol oder Petroleumäther ganz wenig Alkohol hinzu und hängt dann den mit Wasser gefüllten Darm hinein, so tritt dieses hindurch und strömt wolkenartig durch die beiden Flüssigkeiten, bis die zuerst auftretenden Wassertröpfchen so gross geworden sind, dass sie zu Boden fallen.
3. Ordnet man den Versuch so an, dass alkoholhaltiges Benzol oder Petroleumäther in dem Darm sich befinden und das Wasser aussen, so schwimmt der Darm zunächst auf dem Wasser; bald bemerkt man zwei Schichten in demselben und jemeht die untere, nämlich das eingetretene Wasser, zunimmt, senkt sich der Darm mehr und mehr. Nach einiger Zeit tritt Stillstand ein, und es bleibt nun das Wasserniveau im Darne constant niedriger als das äussere, so dass Benzol u. s. w. auf diesem schwimmend anscheinend etwas niedriger stehen als früher.

In das Wasser ist kein Benzol u. s. w. getreten.

4. Wird der mit Wasser gefüllte Darm in wasser- und alkoholfreiem Aether gehängt, so beginnt langsam das Wasser aus der Membran zu dem Aether zu treten, aber ohne dass man ein wolkiges Ausströmen bemerkt. Es lösen sich vielmehr von der Membran schon grössere Tropfen ab, die sich dann am Boden des Aethergefässes ansammeln. Nach einiger Zeit hört aber das Ausfliessen auf. Ein Eintritt von Aether in den Darm zum Wasser war nicht zu constatiren.
5. Nimmt man statt des alkoholfreien gewöhnlichen, also alkoholhaltigen Aether, so erscheint der ganze mit Wasser gefüllte Darm sofort nach dem Einhängen in denselben, wie mit einer Wasserschicht äusserlich umzogen und dasselbe fliesst durch den sonst wasserdichten Darm, als wenn es durch ein Filter hindurchginge und sinkt in grossen Tropfen zu Boden. Nach einiger Zeit ver-



langsam sich der Wasserabfluss, bis er schliesslich anscheinend ganz aufhört. Mit einer Portion Aether war aber niemals alles Wasser aus dem Darne bei obigem Grössenverhältnisse des Apparates zu bekommen. Es gehörte eine öftere Erneuerung des Aethers dazu.

6. Drehen wir den Versuch 4 und 5 wieder um, so dass der Aether in den Darm kommt und dieser in Folge dessen schlaff gefüllt halb auf dem Wasser schwimmt. Sofort beginnt ein lebhaftes Durchtreten des Wassers, so dass der Darm sich füllt und senkt, bis er schliesslich straff angespannt herabhängt. Es tritt in kurzer Zeit so viel Wasser zu dem Aether, dass dieser auf einer Wasserschicht im Darne schwimmt.

So fanden sich z. B. in einem Versuche bei Anwendung von 10 ccm. Aether nach 5 Stunden 6 ccm. Wasser, in einem anderen bei 15 ccm. Aether nach 10 Stunden 8 ccm. Wasser unter diesem in Darne vor. Im äusseren Wasser war kein Aether in Substanz zu constatiren. Er war nur durch den Geruch darin wahrzunehmen.

Wir haben also:

1. Reines Benzol oder Petroleumäther gegen Wasser zeigt keine Diffusion;
2. Alkoholzusatz bewirkt dieselbe;
3. Alkoholfreier Aether gegen Wasser zeigt Diffusion;
4. Alkoholgehalt des Aethers vermehrt dieselbe.

Daraus geht hervor, dass diese Erscheinung hervorgerufen wird durch das gegenseitige Lösungsvermögen der einzelnen Flüssigkeiten gegenüber dem Wasser.

Wodurch es aber bewirkt wird, dass in der Zeit mehr von einer Flüssigkeit hindurchtritt, als die andere zu lösen vermag, warum z. B. das Wasser tropfenweise durch den Darm zum Aether fällt oder warum das diffundirende Wasser mit solcher Gewalt in den Darm eintritt, dass es diesen straff anspannt, das ist eine noch weiter zu erforschende Thatsache.

Ferner ist zu beachten, dass immer nur das Wasser zu der anderen Flüssigkeit tritt, nie umgekehrt ein Uebertritt zum Wasser stattfindet. Denken wir uns aber in dem Wasser einen in Aether sehr leicht löslichen Körper, wie z. B. Cholesterin oder Fette, emulgirt oder gelöst, so wird das Bestreben

des Aethers zu diesem zu treten, so vermehrt werden, als der Alkoholzusatz z. B. die Benzoldiffusion vermehrt.

Endlich ist diese Diffusion eine dem Aether eigenthümliche Erscheinung, die der Alkoholzusatz allerdings vermehrt. Der Alkohol ist nicht die Ursache derselben, sondern auch alkoholfreier Aether bewirkt dieselbe und das ist wichtig für unsere weiteren Zwecke. Denn wir können danach aus dem Gehirne das Wasser oder wenigstens die überwiegende Menge desselben, gewissermassen herausziehen, ohne eine andere Wirkung als die lösende des Aethers auf gewisse Bestandtheile zu befürchten.

Es fragt sich nun ferner, wie sich wässrige Lösungen diffusibler Substanzen gegenüber dem Aether verhalten: Ob eine solche Lösung sich durch die Membran bewegt, ohne eine Einbusse an gelöster Substanz zu erleiden oder ob auch Diffusionsvorgänge in Bezug auf die gelöste Substanz stattfinden. Um dieses zu entscheiden, wurde ein gemessenes Volumen Kochsalzlösung von bekanntem Gehalte der Aetherdiffusion ausgesetzt, sowohl mit alkoholfreiem als mit gewöhnlichem käuflichen Aether. Nach einiger Zeit wurde sowohl das Volumen der diffundirten Salzlösung als auch des Rückstandes gemessen und in beiden Partien das darin enthaltene Kochsalz nach Mohr titirt. Das Resultat war, dass die Kochsalzlösung unvermindert passirte, soweit nicht die Membran selbst als solche etwa befähigt ist, Kochsalz in sich aufzunehmen, und soweit nicht das Volumen der Lösung durch aufgenommenen Aether oder Alkohol sich veränderte. Ich will zum Beweise dessen von einer ganzen Reihe angestellter Versuche nur zwei, die typisch für die anderen sind, anführen:

0 chem. NaCl-Lösung = 0,9477 gr. NaCl (10 chem. = 40,5  $\frac{1}{10}$  normal Ag NO<sub>3</sub> = 0,2369 gr. NaCl) wurden der Diffusion ausgesetzt während 24 Stunden im beschriebenen Apparate gegen Aether:

**I. Alkoholfreien.**

**II. Gewöhnlichen.**

Nach 24 Stunden fanden sich:

**a) im Darne.**

27,5 chem. = 0,6338 gr. NaCl	23,5 chem. = 0,5004 gr. NaCl
(10,0 « = 0,2305 « « )	(10,0 « = 0,2129 « « )



## I. Alkoholfreien.

## II. Gewöhnlichen.

## b) diffundirt.

14,5 ccm. = 0,2850 gr. Na Cl	23,0 ccm. = 0,4144 gr. Na Cl
10,0 « = 0,2036 « « )	(10,0 « = 0,1802 « « )

## Im Ganzen also.

27,5 ccm. = 0,6338 gr. Na Cl	23,5 ccm. = 0,5004 gr. Na Cl
14,0 « = 0,2805 « « )	(23,0 « = 0,4144 « « )
41,5 ccm. = 0,9188 gr. Na Cl	46,5 ccm. = 0,9148 gr. Na Cl

Danach ist also in beiden Fällen fast alles Kochsalz wiedergewonnen worden:

Statt 0,9477 gr. die zum Versuche genommen worden:

in I 0,9188 gr. Differenz = 3,05%

II 0,9148 « « = 3,47 «

Diese Differenz kann darauf beruhen, dass die Darmwand vielleicht Kochsalz bindet oder dass es nicht gelang, alle kochsalzhaltige Flüssigkeit aus dem Darne ganz wiederzugewinnen.

Jedenfalls ist der Verlust ein so geringer, dass er nur auf eine bei aller Vorsicht mangelhafte, aber kaum zu umgehende Versuchsanordnung zurückzuführen ist.

Das Volumen der Kochsalzlösung hat oben und unten im Dialysator durch Aufnahme von Aether oder Alkohol zugenommen, die Concentration dagegen ab. Da wo es sich um Aether allein handelt, weniger und gleichmässiger als da, wo auch der Alkohol in Betracht kommt. Im ersteren Falle fast gleichmässig, im zweiten mehr unten im äusseren Glasgefässe, wo die wässrige Flüssigkeit den alkoholhaltigen Aether passiren musste, als oben im Darne.

Jedenfalls geht meiner Ansicht nach aus diesen Versuchen hervor, dass die Kochsalzlösung in unveränderter Concentration die Darmwand passirte. Dass diese nicht durch die Diffusion durch die Membran, sondern durch ihre Fähigkeit Alkohol und Aether zu lösen verändert wurde.

Die eben besprochenen Erscheinungen zeigt nun aber die Masse des Gehirns in schönster Vollendung. Aus dem Gehirne oder einem Stücke desselben, das so für sich absolut keine Flüssigkeit mehr austreten lässt, fällt das Wasser sofort

zuerst stromweise, in grossen Tropfen, dann langsamer, so wie man es in Aether hängt. Dieses Wasser ist der Fleisch-extrakt in seiner ganzen Concentration.

Der Aether aber dringt mittelst seines Vermögens, Fett leicht zu lösen, begierig wieder hinein und erfüllt die Räume, welche das Wasser vorher einnahm, vollständig.

Wenn man Gehirn z. B., nachdem das Wasser in demselben durch Aether ersetzt worden, vollständig mit Chlorcalcium austrocknet unter Aether und den aufgenommenen dann in einem trockenen Raume verdunsten lässt, so bleibt die ursprüngliche Form der Masse fest und wohl erhalten fast ohne Einschrumpfung bewahrt.

Diese Erscheinung gestattet nun eine glatte Trennung der in Aether löslichen Gehirnbestandtheile von den in Wasser löslichen und allen anderen. Zugleich ermöglicht sie aber auch die Aufarbeitung der Gehirnmasse in einer gewissermassen antiseptischen Weise. Denn da Aether, wie schon länger bekannt antiseptisch wirkt, so braucht man nur die Gehirne unmittelbar vom Thiere, bevor sich noch Zersetzungskeime einnisten können, zur sofortigen Bearbeitung in denselben zu bringen und gewinnt dann die einzelnen Gruppen der chemischen Bestandtheile je nach ihrer Löslichkeit getrennt von einander, ohne eine von Aussen eingeleitete Zersetzung befürchten zu brauchen.

Dass keine weitere Veränderung auf dem von mir erprobten Wege der Bearbeitung im Gehirn eingetreten sein kann, wenn richtig verfahren wurde, als wie solche nothwendig mit dem Tode verbunden, beweist wohl am besten der Umstand, dass der Wasserextrakt so wenig sauer gewonnen wurde, dass darin niemals ohne Säurezusatz beim Aufkochen das Eiweiss coagulirte und dass derartige Extrakt nach einjähriger Aufbewahrung in einer Stöpselflasche unter einer Aetherschicht noch so frisch und unverändert war, wie eben gewonnener.

Um nun möglichst die eigentliche wässrige Flüssigkeit der Gehirnmasse ohne den Inhalt der Gefässe zu bekommen, wurde von folgender Erfahrung Gebrauch gemacht: Wenn



man ein ganz frisches Gehirn sofort nach der Entnahme aus dem Schädel in eine Aether-Atmosphäre hängt, so läuft das Blut in einiger Zeit so vollständig heraus, dass nur minimale Spuren desselben in die später durch Aether-Diffusion zu gewinnende Fleischflüssigkeit gelangen; dieselbe sieht dann gelblich, zuweilen in dickeren Schichten etwas röthlich aus und manchmal gelang es nicht, spectroscopisch darin Blutfarbstoff nachzuweisen. Wenn man dieselbe von Aether befreit stehen lässt, so tritt nur eine ausserordentlich geringe Fibringerinnung ein.

Man erhält also, wenn man auch diese Vorsichtsmassregel anwendet, fast einzig und allein den Inhalt der eigentlichen Gehirnmaterie; wenigstens mit nur soviel des Inhalts der Blutgefässe verunreinigt, dass es kaum in Betracht kommen kann.

Ausser auf das Gehirn lässt sich das besprochene Verfahren besonders auch auf solche Organe mit Vortheil anwenden, die wie dieses relativ viel in Aether lösliche Bestandtheile enthalten. So scheinen mir z. B. die männlichen Geschlechtsorgane der Fische, nach diesem Principe behandelt, bemerkenswerthe Resultate zu versprechen. Wenigstens ergab die vorläufige Untersuchung der Häringsmilch einige neue Beobachtungen (im wässerigen Diffusat z. B. die Verbindung einer organischen Säure mit einer gleichen Base), deren weitere Verfolgung von Interesse zu sein scheint.

---

## II.

### Qualitative Untersuchung.

Nachdem die ersten Versuche mit Kalbs-, Hammel- und Rindsgehirn angestellt worden, wurden später ausschliesslich Pferdegehirne angewandt. Da hier nur in der kälteren Jahreszeit Pferde geschlachtet werden, so war dies für die Anfangsarbeiten günstig; denn wenn auch bei jeder Jahrestemperatur unzersetzt Versuchsmaterial zu gewinnen war, so gewährt doch die kältere Zeit eine grössere Garantie des Gelingens. Bei der bedeutenden Anzahl von Gehirnen, die ich in Arbeit

nahm (im Winter 1881—1882 über 50 Stück), war es natürlich nicht möglich für mich, jedes derselben persönlich sofort vom Thiere aus in Arbeit zu nehmen; dieselben wurden vielmehr gleich beim Schlachter nach der Entnahme aus dem Schädel möglichst unversehrt einzeln in weite Gläser mit Glasstöpseln, die etwa  $\frac{1}{8}$  ihres Volumens Aether enthielten gebracht. Dass dies wirklich möglichst rasch nach dem Tode des Thieres geschehen, war leicht daran zu erkennen, dass später das Blut leicht aus den Gehirnen herausfloss; dann war auch der erste Aetherextrakt stets fast farblos. Um jedoch zu constatiren, dass hierbei kein Versehen gemacht worden, wurden die Gehirne zunächst einzeln bearbeitet und erst später, nachdem sie sich als brauchbar erwiesen, zum völligen Austropfen der Blutflüssigkeit zu etwa 3 oder 4 über Aether in weithalsige Stöpselgläser gehängt. Endlich, wenn dies vollendet schien, wurden sie bis zu 20 Stück zur Diffusionsextraktion in grosse mehr breite als hohe Glasgefässe, damit ein grösserer Druck der einzelnen Stücke auf einander vermieden werde, gebracht und diese mit aufgeschliffenen Glasplatten, die mit Leinmehlkitt verlutirt wurden, verschlossen.

Nachdem das Blut ausgeflossen, wurden die bis dahin möglichst ganz gebliebenen Gehirne von der äusseren Haut, die sich in der Regel sehr leicht abziehen liess, befreit und in grössere Stücke zerschnitten. Dann zog ich zuerst etwa alle 8, später alle 14 Tage die ausgeflossene wässerige Flüssigkeit mit einem Heber ab und füllte den Aether wieder auf, so dass er immer 1—2 cm. über der Gehirnmasse stand. Bei den bisherigen Operationen hatten die Gefässe einen durchlöcherten Einsatzboden von Weissblech etwa 5 cm. über dem Boden des Gefässes, auf den die Masse in einem Stücke engmaschiger Gaze gelegt wurde, um das Hinabfallen kleinerer Stücke in das ausgetretene Wasser zu verhindern. War nach 2—3 Monaten die Diffusion vollendet, so wurden die Gehirnstücke in flache, etwa 1 cm. dicke Scheiben geschnitten und in einem Gefässe ohne doppelten Boden mit relativ mehr Aether die Extraktion zu Ende geführt. Diese war etwa



wiederum bei 8—14-tägiger Erneuerung des Aethers in zwei Monaten beendet.

Von den einzelnen Aetherextrakten wurde der Aether immer sofort bei möglichst niedriger Temperatur abdestillirt; jedoch nicht ganz, sondern nur soweit, dass nach dem Erkalten eine dünn-flüssige, leicht ausgiessbare Masse blieb, aus der durchaus Nichts auskrystallisirte. Dadurch wurde die Temperatur von 40° nicht überschritten. Bei der Temperatur des kochenden Aethers wurden diese Extrakte fast farblos, beim Erkalten färbten sie sich gelblich und nahmen dann je nach der Concentration eine mehr oder weniger dunkle Honigfarbe an. Niemals aber dürfen sie sich braun oder roth-braun zeigen; denn dann ist Zersetzung eingetreten.

Nach vollendeter Aetherextraktion übergiesst man die noch völlig weiche Gehirnmasse mit Weingeist von 80%, hebt nach 24 Stunden dieselbe in dem Gazetuch aus dem Gefässe, lässt abtropfen und presst zwischen Presstuch leicht aus; doch nur so gelinde, dass die Masse nicht zerquetscht wird. Dadurch wird der Rest des Aethers und noch restirendes Wasser entfernt. Nun wiederholt man diese Operation mit Weingeist von 95% 2 mal, dabei nimmt das Volumen des Rückstandes sehr bedeutend ab. Zuletzt presst man sehr kräftig aus, wodurch man einen trockenen, zähen, leicht in Fasern zu zerreisenden Presskuchen erhält. Dieser wird zerkleinert in absoluten Alkohol gebracht und darin einige Tage gelassen. Nachdem auch dieser Alkohol abgegossen, breitet man den harten Rückstand auf Papier aus und lässt den Rest des Alkohols bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten.

Es bleibt nun eine leicht zu Pulver zerreibliche, ganz trockene Substanz, die kein Bestreben zeigt, wieder Feuchtigkeit aus der Luft aufzunehmen, die sich ohne Zersetzung beliebig lange aufbewahren lässt und, wenn sie zerrieben worden, sehr bequem zur weiteren Verarbeitung ist. Nach und nach ist auf diesem Wege ohne Verlust das Volumen des Rohmaterials so verkleinert worden, dass man die weitere

Verarbeitung von zehn Pferdegehirnen bequem in einem zwei Liter fassenden Kolben vornehmen kann.

In einem Kolben erwärmte ich nun die von Aetherextrakt und Wasser befreite Gehirnmasse mit etwa dem vier- bis fünffachen Volumen Weingeist von 85% auf etwa 45° und erhielt längere Zeit unter öfterem Umschütteln bei dieser Temperatur. Es ist nicht nöthig, die Temperatur von 45° ängstlich inne zu halten: ich stellte die Kolben von etwa 1 1/2—2 Liter Inhalt auf mehrfachen Lagen Löschpapier auf die Platte des Wasserbades und schüttelte dieselben häufig um; dadurch überschritt die Temperatur des Inhaltes niemals am Tage 48°. Nach 12 Stunden giesst man den klar über dem schweren Bodensatze stehenden Weingeist, ohne zu filtriren ab. Da diese erste Lösung bei 45° ganz gesättigt ist, so erstarrt sie fast momentan bei nur geringer Abkühlung zu einer schneeweissen Krystallmasse, die sich sehr leicht und rasch abfiltriren lässt.

Man wiederholt die Extraktion bei 45° 3—4 mal mit dem abfiltrirten Weingeist; dadurch wird fast völlige Erschöpfung erzielt. Die letzten Auszüge kann man, ohne dass bei Zimmertemperatur sofort Krystallisation stattfindet, abfiltriren. Den letzten Rest des Löslichen entzieht man der Gehirnmasse durch Nachwaschen mit 40—50° warmem Alkohol auf dem Filter.

Hat man im Sommer die Krystallisation sich im kühlen Keller vollziehen lassen, so erhält man noch weitere Krystalle, wenn man die Mutterlauge ebenso, wie die früheren zweiten kalten Auszüge mit Weingeist von 95% und den mit absolutem Alkohol mit Eis und Kochsalz abkühlt.

Den von den Krystallen getrennten Weingeist destillirt man ab. Es bleibt ein schmieriger, halb wässriger, halb öligter Extrakt zurück, der sich auf Aetherzusatz in eine wässrige und eine ätherische Schicht, in denen nur sehr wenig unlösliche Flocken sich befinden, trennt. Erstere gab ich zu dem ersten wässrigen Diffusat, um sie mit diesem zu untersuchen. Letztere wurde dagegen, da in ihr entschieden nur Zersetzungsprodukte vorhanden, nach dem



Entfernen des Aethers mit Barytwasser verseift und auf Neurin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren verarbeitet.

Nach dieser Methode ist die Gehirnmasse zerlegt in:

1. Wasserextrakt,
2. Aetherextrakt,
3. Alkoholextrakt,
4. Unlöslicher Rückstand.

1. Enthält nach meinen bisherigen Untersuchungen alle Bestandtheile des Fleischextraktes ausser Kreatin; davon auffallend viel Xanthinverbindungen und Milchsäure.

Seine Untersuchung ist noch nicht völlig abgeschlossen und werde ich erst später ausführlich über dieselbe berichten.

Ueber 2 und 3 referire ich in besonderen Abschnitten. Doch ist zu bemerken, dass der Aetherextrakt immer etwas von der durch Alkohol isolirbaren Substanz enthält.

4 enthält:

- a) Nuclein,
- b) Neurokeratin,
- c) Albuminstoffe,
- d) Bindegewebe.

Wenn man diesen Rest wieder bei gewöhnlicher Temperatur trocknet und durch ein feines Sieb treibt, so bleiben die etwa vorhandenen Gefässe in Form elastischer Fäden oder mehr oder weniger wolliger Massen zurück. Wenn man dann das feine Pulver mit Pepsinsalzsäure behandelt, so wird c und d entfernt und man kann das Nuclein mit Natronlauge ausziehen. Als Rest bleibt dann das Neurokeratin. Ich berichte über diese Verhältnisse speciell in der quantitativen Untersuchung.

Die löslichen Albuminstoffe sind im Wasserextrakte enthalten, sie verhalten sich völlig wie die des Fleischextraktes.

Die unlöslichen dagegen sind nur zu erforschen, wenn man direkt nach der Aetherdiffusion, bevor man mit Alkohol behandelt, die feste Masse mit passenden Lösungsmitteln extrahirt. Meinen bisherigen, wenn auch sehr beschränkten, Versuchen nach verhalten sie sich dem Casein ähnlich.

Von den anorganischen Salzen sind die löslichen im Diffusat, die unlöslichen im letzten Rückstande und gehen von da in den Pepsinsalzsäure-Auszug über.

### Aetherextrakt.

Das durch Aether gewonnene Extrakt wurde, wie schon erwähnt, nur soweit von demselben durch Destillation befreit, dass noch eine leicht ausgiessbare Flüssigkeit blieb, die durchaus keine Neigung zeigte, ohne weitere Verdunstung zu krystallisiren. Doch schieden sich, wenn der Aether möglichst weit abdestillirt worden, weisse Flocken in ziemlicher Menge aus. Dieselben waren P-haltig und erwiesen sich nach dem mehrmaligen Umkrystallisiren aus Alkohol bei 45° als identisch nach Krystallisation und Schmelzpunkt mit der aus dem Alkoholextrakt gewonnenen Substanz. Dieselbe hatte sich in der grossen Menge des Diffusionsäthers gelöst, da sie etwas darin löslich ist, fällt aber bei der Verringerung des Volumens desselben heraus. Frémy machte schon dieselbe Beobachtung<sup>1)</sup>. Ich versuchte nun, nachdem diese Flocken abfiltrirt worden waren, zunächst das Cholesterin, das in diesem Auszuge sein musste, als eine schon bekannte Verbindung bei möglichster Schonung für das noch übrige Vorhandene zu entfernen. Zu diesem Zwecke giesst man am Besten die ätherische Lösung in etwa das gleiche Volumen Alkohol von 95 %, wodurch sofort eine fast weisse krystallinische Ausscheidung von Cholesterin, das nur mit einer braunen, flockigen Materie durchsetzt ist, erfolgt. Stellt man dann das Gemenge in einem offenen Becherglase an einen mässig warmen Ort, bis der Aether verdunstet ist und lässt es darauf einige Zeit zugedeckt bei niedriger Temperatur stehen, so ist fast alles Cholesterin herauskrystallisirt. Man bringt dasselbe am Besten auf einen mit Glaswolle lose verstopften Trichter, lässt abtropfen und wäscht mit kaltem Alkohol nach, indem man durch zeitweisen Verschluss des Trichterrohres dafür sorgt, dass der erneute Alkohol einige

<sup>1)</sup> Untersuchungen über das Gehirn. *Annalen der Chemie und Pharmacie*, Bd. 40, S. 69.



Zeit über dem Trichterinhalt stehen bleibt. Wenn der Alkohol sich nicht mehr färbt, hat man auf dem Trichter fast reines, nur mit oben erwähnter brauner Materie durchsetztes Cholesterin, das leicht aus Alkohol in grossen Blättern vom Schmelzpunkte  $145^{\circ}$  krystallisirt, ohne dass dadurch die braune Materie entfernt wird. Dieselbe ganz zu beseitigen, ist mir bis jetzt nur durch ihre Zersetzung gelungen, indem ich mit weingeistigem KHO kochte. Nach dem Verjagen des Alkohols wurde aus der so erhaltenen wässerigen Seifenlösung das Cholesterin rein durch Aether aufgenommen. Verwandelte man es in den Benzoësäureäther nach der Methode von E. Schulze<sup>1)</sup>, so zeigte dieser nur eine Krystallform: verseifte man diesen wieder und extrahirte mit Aether, so lieferte dieser nur gewöhnliches Cholesterin, Schmelzpunkt =  $145^{\circ}$ .

Noch einen anderen Weg gibt es, um die in kaltem Alkohol löslichen Verbindungen von Cholesterin und der braunen Materie zu trennen, ohne letztere zu zersetzen. Man giesst die durch Eingiessen des ätherischen Extractes in Alkohol und nachheriges Verdunsten des Aethers bei gewöhnlicher Temperatur erhaltene alkoholische Lösung von dem Ungelösten ab, gibt dann neuen Alkohol von 95% zu dem Rückstande und lässt längere Zeit bei  $40-50^{\circ}$  stehen. Hat sich der Alkohol bei dieser Temperatur mit Cholesterin gesättigt, so krystallisirt dieses beim Erkalten wieder fast völlig in beinahe reinen Blättern heraus, während das in Alkohol Unlösliche sich als gelb-bräunlicher Bodensatz mit dem ungelösten Cholesterin ansammelt. Nach sehr oft wiederholter Behandlung dieses Bodensatzes mit erneutem Alkohol von 95% bei  $40-50^{\circ}$  wird das Letztere fast vollständig entfernt und man erzielt allerdings mit Aufwand von sehr viel Alkohol eine Trennung in: 1. Cholesterin, 2. einen in Alkohol bei gewöhnlicher Temperatur und  $0^{\circ}$  nicht löslichen und 3. einen in Alkohol leicht löslichen Extrakt.

Nr. 1 ist schon besprochen, Nr. 2 ist zum Theil wieder

<sup>1)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1872, S. 1075.

in Aether löslich, zum Theil nicht. Es ist P-haltig und der in Aether nicht lösliche Theil besteht wesentlich aus Unorganischem. Es wurde bis jetzt nicht näher untersucht. Nr. 3 die alkoholischen, gelb gefärbten Auszüge lässt man in flachen Schalen bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur verdunsten. Ist der Alkohol fort, so bleibt eine röthlich-gelbe, ölig-schmierige Masse, die mit grossen Cholesterinkristallen durchsetzt ist, zurück. Man rührt dieselbe mit wenig Alkohol von 85% bei 40° an, wodurch sich nur das Oel löst, filtrirt wieder über Glaswolle von den ungelösten Krystallen ab und verdunstet den Alkohol bei 40°. Hat man diese Operation des Lösens in 85 procent. Alkohol und Verdunsten des Filtrats noch 1 oder 2mal wiederholt, so bleibt in der Regel bei einer ferneren Wiederholung das Oel völlig klar und es scheidet sich in der alkoholischen Lösung auch beim Abkühlen unter 0° keine Spur von Cholesterin mehr ab.

Ein anderer Weg, um das frei herauskrystallisirende Cholesterin zu entfernen, ist der, dass man den ölig-schmierigen Rückstand bei 40° in möglichst wenig absolutem Alkohol löst und dann einer Temperatur wenig unter 0° während wenigstens 24 Stunden aussetzt. Wenn man dann bei wenig unter 0° die ausgeschiedenen Cholesterin-Krystalle abfiltrirt, mit Alkohol bei gleicher Temperatur nachwäscht und allen Alkohol bei 40° wieder abdunsten lässt, so werden in der Regel bei einer zweiten Wiederholung dieser Operationen mit dem Rückstande keine Cholesterin-Ausscheidungen mehr beobachtet. Die dritte beseitigt es sicher.

Wenn man aber die ölige gelbe Masse, nachdem kein Cholesterin mehr auf ein oder dem anderen Wege auskrystallisirt mit weingeistigem Kali verseift, den Alkohol von der Seifenlösung verjagt und die wässrige Lösung mit Aether ausschüttelt, so werden aufs Neue grosse Mengen von Cholesterin erhalten. Ein Fingerzeig, wie mir scheint, dass neben freiem Cholesterin auch eine Verbindung desselben im Aetherextrakte des Gehirnes vorkommen muss. Ein solches Vorkommen ist von E. Schulze <sup>1)</sup> auch im Wollfett nachgewiesen; allerdings

<sup>1)</sup> L. cit.



dort in dem in Weingeist unlöslichen Theile des Wollfettes.

Welcher Natur diese Cholesterin-Verbindung ist, entzieht sich bis jetzt noch unserer Kenntniss. Ich vermuthete, dass es eine Oelsäure-Verbindung sei, denn die mit Salzsäure zersetzte Kaliseife gab bedeutende Mengen Oelsäure. Jedoch konnte ich bis jetzt keinen Oelsäure-Cholesterin-Aether aus dem Oele isoliren, der identisch gewesen wäre mit dem von mir synthetisch aus Oelsäure und Cholesterin durch Erhitzen im Rohre auf 200° dargestellten.

Ich hoffte aus dem vom nicht gebundenen Cholesterin befreiten Extrakte durch Abkühlen der ganz concentrirten alkoholischen Lösung auf eine sehr niedere Temperatur Lecithin zu gewinnen. Aber wenn sich auch bei 24stündigem Stehen bei  $-7^{\circ}$  bis  $-10^{\circ}$  reichliche Krystallisationen von eigenthümlich körniger Beschaffenheit bildeten und diese auch leicht durch wiederholtes Lösen bei niederer Temperatur in absolutem Alkohol und Abkühlen auf  $-10^{\circ}$  ganz weiss und anscheinend nach der mikroskopischen Untersuchung in gleichmässiger Krystallisation zu erhalten waren, so ergab doch die P-Bestimmung so niedere Zahlen, dass an Lecithin gar nicht zu denken war. Es wurden in der über Schwefelsäure getrockneten Substanz bei drei verschiedenen Darstellungen gefunden:

$$P = 1,4539\%$$

$$1,5309 \text{ ‹}$$

$$1,6131 \text{ ‹}$$

$$\text{Lecithin erfordert } P = 3,99\%$$

Da hier übereinstimmende Zahlen gefunden waren, wurde auch die Bestimmung von C und H versucht. Auch diese ergaben fast gleiche Resultate von 2 verschiedenen Darstellungen:

$$C = 71,99\% \quad 72,19\%$$

$$H = 11,88 \text{ ‹} \quad 11,57 \text{ ‹}$$

$$\text{Lecithin erfordert } C = 64,86\%$$

$$H = 11,45 \text{ ‹}$$

Bei weiteren Versuchen aber durch Umkrystallisiren aus Alkohol bei nicht ganz so niederer Temperatur, wie bisher

möglich war, diese Substanz in noch reinerer Form zu erhalten, zerlegte sie sich jedesmal und lieferte theils in Alkohol, theils nur in Aether lösliche Zersetzungsprodukte.

Jedenfalls ist der Aetherextrakt zu trennen in einen bei sehr niedriger Temperatur krystallisirenden Theil und einen dabei nicht krystallisirenden. Die eingehende Erforschung dieser Substanzen erfordert aber eine sehr niedere und vor Allem anhaltende Winterkälte. Durch künstliche Abkühlung kann man nicht hoffen etwas zu erreichen, da auch alle Filtrationen, die sehr langsam vor sich gehen, bei niederster Temperatur vorgenommen werden müssen.

Dass aber in diesem Extrakte ausser Lecithin und dem fraglichen Cholesterinäther noch anderweite uns vielleicht noch unbekanntere Verbindungen in nicht geringer Menge vorhanden sind, zeigte eine quantitative Untersuchung von Substanzen verschiedener Darstellung.

Dieselben lieferten nach dem Verseifen Cholesterin a und nach dem Verbrennen mit Soda und Salpeter Phosphor b.

I a = 13,0716%	b = 2,3345%
II = 14,2232 %	= 1,9641 %
III = 22,6447 %	= 1,8723 %
IV = 22,0982 %	= 1,9013 %

I und II stammen von 2 verschiedenen ganzen Gehirnen; III und IV von ein und demselben und zwar enthält III vorwiegend weisse Substanz, IV dagegen vorwiegend graue.

Wenn auch die einzelnen Gehirne ganz verschieden zusammengesetzte Extrakte liefern, so scheint doch in ein und demselben der gleiche Extrakt aus grauer und weisser Substanz erhalten worden zu sein. Wenn wir aber den Phosphor im Lecithin annehmen, der Verbindung, welche von den bekannten den höchsten P-Gehalt besitzt, und das Cholesterin als Oelsäure-Aether in Rechnung setzen — also zwei Verbindungen darin annehmen von hohem Molekulargewicht, so ergibt sich gegen den Gesamtextrakt immer noch eine beträchtliche Differenz.



	Lecithin	Cholesterin	Differenz gegen 100%
I	22,3858	58,5131	19,1011
II	24,2558	49,2263	27,4179
III	38,8568	46,9272	14,2160
IV	37,8409	47,6540	14,5051

Zu bemerken ist noch, dass bis zum Ende der Versuche der Aetherextrakt immer eine völlig neutrale Reaction bewahrt hatte und dass mit ihm durchgeschütteltes kaltes Wasser durchaus keine Säure aufgenommen hatte.

Das Studium des ätherischen Gehirnextraktes wird sich vorwiegend diesem Theile desselben zuzuwenden haben. Wenn man den von mir bei dieser ganzen Untersuchung befolgten Grundsätzen aber folgen will, so ist auch hier nur weiter zu arbeiten, wenn ein kalter Winter uns unterstützt. Material zur Fortsetzung derselben bei günstiger Gelegenheit habe ich genügend gesammelt.

#### Alkoholextrakt bei 45° erhalten.

Der Alkoholextrakt bei 45° erhalten lieferte nur eine einzige Substanz: nämlich den von Liebreich Protagon<sup>1)</sup> genannten Körper der, nach dem Vorgange von Diakonow auch von Hoppe-Seyler als ein Gemenge von einer glycosidartigen Cerebrin genannten Verbindung mit Lecithin angesehen wird. Ich muss mich in Folge der bei dieser Untersuchung gemachten Beobachtungen mit Liebreich und Blankenhorn & Gamgee für die Ansicht erklären, dass es eine einheitliche phosphorhaltige Verbindung ist, welche bei passender Behandlung die Zersetzungsprodukte des Lecithin neben Cerebrin liefert, und kein mit Lecithin verunreinigtes Cerebrin. Dieselbe hat aber im ganz reinen Zustande nicht die von Liebreich gefundene Zusammensetzung, sondern dieselbe entspricht den von Blankenhorn & Gamgee<sup>2)</sup> ermittelten Zahlen. Die nach meiner Methode dargestellte Substanz zeigt alle Eigenschaften, wie sie von den beiden letztgenannten Untersuchern angegeben werden, und die Zahlen meiner Analysen fallen mit denen dieser Autoren ganz zusammen.

1) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 134, S. 29.

2) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 260.

Dieselben stellten ihr Protagon aus Ochsenhirn dar, durch Extrahiren desselben im feuchten Zustande, nachdem es entweder vorher mit Aether behandelt worden oder auch nicht, mit Alkohol von 85 % bei 45° und Erschöpfen des beim Erkalten gewonnenen Niederschlages mit Aether. Wiederholtes Umkrystallisiren aus Alkohol bei 45° und Waschen der einzelnen Krystallisationen mit Aether lieferte das Material zu den Analysen.

Ich erschöpfte möglichst vor postmortaler Zersetzung bewahrtes Pferdehirn mit Aether, befreite dasselbe zugleich vom Wasserextrakte, trocknete den Rückstand successive bei gewöhnlicher Temperatur in immer stärkerem, endlich in absolutem Alkohol ganz aus und entzog dann dem trockenen Rückstande erst durch Alkohol von 85 % bei 45° die Verbindung. Der so gewonnene Auszug gab sowohl bei Zimmertemperatur dieselbe Verbindung, wie auch die Mutterlauge von dieser beim Abkühlen unter 0°. Die weitere Behandlung der gewonnenen Substanz war dieselbe wie die vorige.

Dieselbe ist in warmem Alkohol leicht, in kaltem schwer löslich und krystallisirt aus diesen Lösungen je nach der Concentration derselben und der Schnelligkeit der Abkühlung bald in rosettenartig vereinigten mikroskopischen, bald in grossen gekrümmten fast makroskopischen Nadeln. Dieselben sind mitunter derartig zu kompakten Kugeln vereinigt, dass nur der äusserste Rand derselben die Spitzen der Krystalle erkennen lässt. Mitunter bilden die grösseren Krystalle ein dichtes Gewirr von Nadeln, die unregelmässig durcheinander liegen, oder sie sind, wenn man auf einem Objectträger auskrystallisiren lässt, von einer Mittelrippe ausgehend, nach beiden Seiten so geordnet, dass sie völlig das Aussehen von gekräuselten Straussfedern darbieten.

Niemals darf eine solche Krystallisation knollige, durchsichtige Gebilde zeigen mit völlig glatten Conturen. Sind diese vorhanden, so muss man den Gedanken, sie in die Nadeln wieder überzuführen oder dieselben durch Umkrystallisiren aus Alkohol zu entfernen, aufgeben. Dieselben gehören den Zersetzungsprodukten des Protagon an, welche in der Wärme



durch Alkalien aus denselben gewonnen werden: sie sind das sogenannte Cerebrin oder Vorstufen dazu. Auch Liebreich macht in seiner schon citirten Abhandlung auf sie aufmerksam. Unter dem Mikroskope kann man die Letzteren von etwaigen kugligen Agregaten des Protagon noch dadurch leicht unterscheiden, dass sie durch Druck unter dem Deckglase in scheibenartige Gebilde zerquetscht werden, während Protagon unter gleichen Verhältnissen in Nadeln zerfällt. Ist diese Zersetzung eingetreten, so erstarren die alkoholischen Lösungen häufig beim Erkalten wie Stärkekleister.

Ferner darf eine alkoholische Lösung, wenn sie auch beim Erkalten nur Nadeln liefert, niemals das Bestreben zeigen zu gelatiniren, wie es schon oft beobachtet worden. Parcus<sup>1)</sup> beschreibt als mit dieser Eigenschaft begabt sein Homocerebrin und Enkephalin. Ist diese Erscheinung wahrnehmbar, dann ist das Protagon nicht mehr rein zu erhalten, denn es ist diejenige Zersetzung wohl zum Theil schon eingetreten, wie sie durch Säuren im Cerebrin hervorgerufen wird, und es hat sich vielleicht schon das von Geoghegan<sup>2)</sup> beschriebene Cetylid gebildet oder zu bilden angefangen.

Die letztere Erscheinung beobachtet man seltener als die erstere.

In Aether löst sich das Protagon, besonders in der Wärme, und krystallisirt in feinen Nadeln wieder aus. Aus Alkohol krystallisirt und, nachdem es zwischen Papier gut abgepresst worden, über  $\text{SH}_2\text{O}_4$  getrocknet, bildet es ein lockeres weisses Pulver, das durchaus nicht hygroskopisch ist. Mitunter jedoch erhält man zuerst wachsartige zusammenhängende Stücke, die sich aber leicht zu einem zarten Pulver zerdrücken und reiben lassen, ähnlich wie die Masse guter Stearinlichter. Gegen Wasser und Salzlösungen verhält sich die Substanz genau so, wie es Liebreich beschreibt.

Ueber Schwefelsäure getrocknet verliert sie gegen  $100^\circ$  nicht am Gewicht und lässt sich tagelang an der Luft auf einer Temperatur erhalten, wie sie die mit Dampf geheizten

1) Journal für praktische Chemie, Bd. 24, S. 310.

2) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 332.

Trockenschranke besitzen, ohne eine Veränderung zu zeigen. Bei 100° dagegen (im mit kochendem Wasser erhitzten Trockenschranke) färbt sie sich langsam gelblich und unter allmäliger Zersetzung sinkt der Schmelzpunkt.

Zur Ermittlung dieses im  $\text{SH}_2\text{O}_4$ -Bade im Capillarrohre erhitzt, wird sie schwachgelb über 150°, schmilzt erst bei 200°, fängt an zu sieden unter Bräunung über 220°.

Die Analysen ergaben bei der Verbrennung mit  $\text{CuO}$  mit vorgelegtem metallischen  $\text{Cu}$  im O-Strome:

I Substanz	= 0,2475 gr $\text{CO}_2$	= 0,6038	= C 0,1647
1 mal umkrystallisirt	$\text{H}_2\text{O}$	= 0,2448	= H 0,0272
II Substanz	= 0,2620 gr. $\text{CO}_2$	= 0,6369	= C 0,1737
1 mal umkrystallisirt	$\text{H}_2\text{O}$	= 0,2597	= H 0,0289
III Substanz	= 0,3055 gr. $\text{CO}_2$	= 0,7476	= C 0,2039
2 mal umkrystallisirt	$\text{H}_2\text{O}$	= 0,3005	= H 0,0334
IV Substanz	= 0,2195 gr. $\text{CO}_2$	= 0,5357	= C 0,1461
4 mal umkrystallisirt	$\text{H}_2\text{O}$	= 0,2215	= H 0,0245

Die volumetrische Stickstoffbestimmung ergab:

I Substanz	= 0,6472 gr., cbcm. N = 12,5
B	= 763,4, Temp. = 14° C.
IV Substanz	= 0,7125 gr., cbcm, N = 14,5
B	= 765,7, Temp. = 18° C.

Die Phosphorbestimmung nach dem Verbrennen mit Soda und Salpeter ergab:

I Substanz	= 0,3987 gr. $\text{P}_2\text{Mg}_2\text{O}_7$	= 0,0150
	P	= 0,0042
III Substanz	= 0,3785 gr. $\text{P}_2\text{Mg}_2\text{O}_7$	= 0,0147
	P	= 0,0041
IV Substanz	= 0,4235 gr. $\text{P}_2\text{Mg}_2\text{O}_7$	= 0,0161
	P	= 0,0045

Daraus ergibt sich:

Liebreich		I	II	III	IV	Blankenhorn & Gamgee.
67,3	C	66,54	66,29	66,74	66,56	66,39
11,7	H	10,99	11,03	10,93	11,16	10,69
2,83	N	2,28	—	—	2,42	2,39
1,23	P	1,0534	—	1,0823	1,0626	1,068

Ganz die gleichen Angaben über Löslichkeit, Krystallform und Schmelzpunkt, wie ich sie angegeben, machen auch



Blankenhorn & Gamgee in der citirten Abhandlung. Auch ihre analytischen Resultate fallen, wie obiger Vergleich zeigt, mit meinen zusammen.

Diese Gleichartigkeit der Ergebnisse, zu denen wir auf verschiedenem Wege gelangt, spricht dafür, dass wir es mit derselben chemischen Verbindung zu thun gehabt haben.

Wenn nun auch die genannten beiden Autoren in der citirten Abhandlung die anderweiten Arbeiten über diesen Gegenstand einer eingehenden Kritik unterziehen, so sei es mir nur gestattet, Einiges über und gegen die Gründe anzuführen, die die zu einem massgebenden Urtheil am meisten berufenen Forscher auf diesem Gebiete — Diakonow und Hoppe-Seyler — bewogen, für die Nichtexistenz des Protagon sich zu entscheiden.

Dass das Lecithin mit anderen Substanzen Verbindungen eingeht, hat Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> an dem Vitellin des Eidotters selbst gezeigt, das, ohne sich wesentlich zu verändern, kein Lecithin liefert. Er stellt allerdings diese Angabe wieder in Frage in einer Anmerkung zu dem Abdrucke der Abhandlung von Blankenhorn & Gamgee<sup>2)</sup>, in der er diese Verbindung des Vitellins mit Lecithin als nicht sicher gestellt bezeichnet. Dagegen sagt er später wieder<sup>3)</sup>: «Aus den Dotterplättchen wird durch heissen Alkohol Lecithin entzogen. Nachdem dann der dadurch frei gewordene Eiweissstoff charakterisirt ist, fährt er fort: «ob derselbe in den Dotterplättchen und den grossen Dotterkugeln mit dem Nuclein und Lecithin in chemischer Verbindung sich befindet, ist nicht ausgemacht, jedenfalls ist das Lecithin durch Schütteleh und Waschen mit Aether allein nicht vollständig zu entfernen, wenn auch beim Schütteln von Eidotter mit viel Aether ein grosser Theil von Lecithin in die ätherische Lösung übergeht.» Nachdem dann ferner Valenceiennes und Frémy's Ichthin, Ichthidin und Emydin als nach ihrer Darstellung nicht rein und unverändert anzusehende chemische

1) Medicinisch-chemische Untersuchungen 1866, S. 215.

2) L. cit.

3) Physiologische Chemie, S. 779.

Körper bezeichnet werden, heisst es weiter: «aber es würde sich auch noch nicht angeben lassen, wie man die Vitelline, Nuclein und Lecithin trennen oder den Nachweis führen soll, dass sie selbst erst Zersetzungsprodukte complicirter Stoffwären. Es ist gar nicht unwahrscheinlich, dass die Behandlung mit Aether und mit Wasser schon hinreicht, Zersetzung herbeizuführen.»

Ferner sagt Hoppe-Seyler<sup>1)</sup>: «In den Dotterkugeln und Dotterkrystallen ist stets mit ihnen (den Vitellinen) in lockerer Verbindung oder neben ihnen enthalten Lecithin und Nuclein, deren Abtrennung ohne chemische Aenderung der Vitelline noch nicht gelungen ist.» Danach lässt er die Frage offen, ob eine chemische Verbindung der beiden Componenten Lecithin und Eiweiss im Vitellin vorliege, da dies nicht bewiesen ist; aber er erklärt selbst, dass eine Lösung des Lecithin nur mit einer Veränderung des Vitellins zu erreichen sei.

Das heisst mit anderen Worten: «Wir sind nicht berechtigt, das Vitellin als chemische Verbindung zu betrachten, da es so wenig prononcirte Eigenschaften besitzt, trotzdem wir aus ihm zwei ganz heterogene sehr wohl charakterisirte Verbindungen immer abscheiden können.

Stehen wir den eiweissabspaltenden sogenannten Nucleinen anders gegenüber? Wie lange sind eiweissabspaltende P-haltige Verbindungen als verunreinigte Eiweisskörper aufgefasst worden.

Wir haben ferner auch ganz analoge Verhältnisse im Gehirne mit dem Protagon.

Sonderbar ist es, dass immer die P-haltigen Verbindungen diese zweifelhaften, lockeren Anlagerungen bewirken: drängt sich dadurch der Phosphor in den Lebensprozess ein und wird diese Erscheinung bewirkt durch die Dreibasicität der Phosphorsäure?

Im Ei, dem Gehirn, dem Sperma, der Milch, dem Eiter:

<sup>1)</sup> Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 5. Aufl. 1883, S. 272.



den Blutkörperchen begegnen wir diesen Verbindungen vorwiegend.

Aus der Milch ist das Nuclein-Casein noch nicht krystallisirt dargestellt, ebensowenig die Nucleine der Eiter und Blutzellen, des Spermas oder von anderen Orten. Aber ebenso wie wir aus dem Ei durch Extraktion und Schlämmen den krystallisirten P-haltigen Körper gewinnen können, auf ganz ähnliche Weise vermögen wir denselben aus dem Gehirne, dem Sperma, dem Eiter durch Extraktion und vorsichtige Beseitigung der ihn verdeckenden Substanzen zu isoliren.

Dass man die krystallisirte Substanz des Eidotters schon vor der Isolirung mikroskopisch beobachten kann, die anderen nicht, fällt meiner Ansicht nach nicht sehr in's Gewicht.

Diese Körper geben alle, wenn man sie derartig behandelt, dass sie zerfallen — und das geschieht sehr leicht, sobald sie nicht ganz rein dargestellt werden — Lecithin und ferner eine den Eiweisskörpern oder vielleicht eine den Kohlehydraten sich anreihende Verbindung.

Damit ist durchaus nicht ausgeschlossen, dass sich daneben nicht auch freies Lecithin an den betreffenden Orten findet. Gerade umgekehrt, wie ich Andeutungen dafür gefunden zu haben glaube, dass nicht alles Cholesterin frei, sondern auch ein nicht geringer Theil gebunden im Gehirne vorhanden ist.

Diakonow, der Liebreich's Protagon direkt für ein Gemenge erklärte, ging seiner Zeit noch weiter, indem er sagt<sup>1)</sup>: «Ich will nicht behaupten, dass das Lecithin im Gehirne, wie im Eidotter im freiem Zustande sich befindet; ich finde aber auch keine Thatsache, welche eine chemische Verbindung des Lecithins mit dem Glycosid des Gehirns beweisen würde.»

Ich führe diese Auszüge nur an, um zu zeigen, dass theoretische Erörterungen hier am allerwenigsten zum Ziele führen können, da die beiden Hauptautoritäten in Bezug auf

<sup>2)</sup> Medicinisches Centralblatt 1868, S. 99.

das freie oder gebundene Vorkommen des Lecithins in diesem Punkt selbst schwankend sind.

Es ist also die Frage, wo finden wir die Thatsachen, die Diakonow vermisst, welche als positive Beweismittel für das Eine oder das Andere dienen können.

Ein wesentliches Moment, das Hoppe-Seyler gegen die Existenz des Protagon anführt, ist folgendes:

Cerebrin<sup>1)</sup> reißt, wie viele andere Stoffe bei ihrer festen Abscheidung aus einer Lösung, beim Auskrystallisiren Lecithin mit nieder und liefert ein P-haltiges Cerebrin. Diese Thatsache, auf die zuerst von Diakonow aufmerksam gemacht worden ist, würde allerdings gegen die Einheitlichkeit des Protagon sprechen, wenn bewiesen wäre, dass das Produkt dieser Addition immer die gleiche Zusammensetzung hätte, gleich krystallisirte und den gleichen Schmelzpunkt zeigte wie das Protagon, oder dass man aus einem auf diese Weise gewonnenen Rohprodukt durch genügend vorsichtiges Umkrystallisiren ein dem Protagon gleiches Gemenge isoliren könne.

Wenn diese Bedingungen sich erfüllten, so würde man dadurch aber gerade Etwas erhalten haben, dessen immer wiederkehrende Eigenschaften den Gedanken eher an eine Verbindung zwischen Lecithin und Cerebrin als an eine mechanische Mischung beider aufkommen liesse.

Die physikalischen Eigenschaften der Substanz, die wir Protagon nennen, sind aber derart constante bei den verschiedensten Darstellungen, wenn man nur bei genügender Vorsicht die Reinigung des Rohproduktes bis zu Ende durchführt, dass Letzteres der Fall ist.

Ferner führen Diakonow und Hoppe-Seyler als Grund für ihre Ansicht an, dass man niemals eine Verbindung von constantem P-Gehalt beim Umkrystallisiren erhalten könne.

Diakonow, der sagt: «das von Liebreich beschriebene Protagon ist meiner Ansicht nach ein ganz P-freier Körper, dessen P-Gehalt nur auf einer Verunreinigung mit Lecithin

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler: Medicinisch-chemische Untersuchungen, Bd. V, S. 486.



beruht», stützt sich dabei auf Liebreich's Formel mit 1,50 % P und darauf, dass durch Extraktion mit Aether leicht in nach Liebreich's Methode dargestelltem Protagon der P auf 1,02 % herabgebracht werden könne.

Ich führe dies, obgleich es schon von Blankenhorn & Gamgee hervorgehoben, wieder an, da auch ich das Liebreich'sche Protagon als ein nicht reines Produkt ansehe, aus dem man die verunreinigenden P-haltigen Verbindungen durch Aether entfernen kann. Ist das erreicht, und das ist nach Diakonow bei 1,0217 % P, nach Blankenhorn & Gamgee bei 1,068 % P, nach meinen Analysen bei 1,0562 % P der Fall, dann ist ein Körper zurückgeblieben, der den P so fest gebunden enthält, dass es tiefer eingreifender Reactionen bedarf, um ihn zu entziehen.

Dahin gehört aber schon das nicht mit äusserster Vorsicht ausgeführte Umkrystallisiren z. B. aus zu starkem Alkohol oder bei zu hoher Temperatur. Ferner gehört dahin das längere Kochen mit Aether. Dadurch wird, wie Blankenhorn & Gamgee schon gezeigt haben und wie ich an meinen Präparaten bestätigt gefunden, das Protagon zersetzt.

Das von mir dargestellte Protagon löst sich unverändert in Aether (schwer in kaltem, leicht in warmem) und krystallisirt daraus in feinen Nadeln, die, wenn sie getrocknet sind, ein lockeres weisses Pulver bilden. Kocht man aber mit dem Aether längere Zeit, so erhält man beim Erkalten ebenfalls Nadein; dieselben geben aber im getrockneten Zustande eine mehr oder weniger zusammenklebende Masse, die sich allerdings auch, aber verhältnissmässig schwierig, zu einem zarten Pulver zerreiben lässt.

Der Schmelzpunkt blieb fast derselbe, aber es zeigte sich, je länger gekocht wurde, eine um so stärkere Bräunung bei 170° und zugleich schien die Schmelzprobe bei 150° oder auch schon darunter zusammen zu sintern.

Beide Erscheinungen beobachtet man bei reinem Protagon nicht.

Der P-Gehalt sank zugleich mit der längeren Einwirkung des kochenden Aethers. So erhielt ich aus einem Präparate von tadelloser Krystallisation P %:

= 1,0286;

Nach einmaligem Umkrystallisiren aus Aether nach raschem Lösen:

= 1,0378;

Nach mehrmaligem raschen Umkrystallisiren:

= 1,0098;

Nach 3stündigem Kochen mit Aether am Rückflusskühler:

= 0,9286;

Nach je weiteren 3 Stunden:

= 0,8198

= 0,7737

= 0,6831

= 0,6094.

Wendet man warmen Alkohol an, besonders wenn man 50° überschreitet, dann ist diese Zersetzung noch leichter zu beobachten und rascher weiterzuführen als mit kochendem Aether, wo constant die Temperatur von 40° nicht überschritten wird. Ich wandte nur mit Wasser, Chlorcalcium und Natrium gereinigten Aether zu den vorigen Versuchen an. Nimmt man gewöhnlichen käuflichen, so wird viel leichter Zersetzung beim Kochen hervorgerufen. Niemals aber kann man hierbei, oder durch Umkrystallisiren aus Alkohol, wie auch schon Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> erwähnt, allen P vollständig entfernen, trotzdem das Lecithin doch so leicht schon in kaltem Alkohol und Aether löslich ist.

Ich dachte nun zunächst daran, ob es nicht möglich wäre, irgend ein Lösungsmittel zu finden, das entweder, wenn Protagon und Cerebrin selbstständige Verbindungen wären, das Eine löste und das Andere nicht, oder wenn Protagon nur mit Lecithin verunreinigtes Cerebrin wäre, das Erstere glatt aufnehme und das Letztere ungelöst lasse.

Aber alle bisherigen Versuche haben nichts ergeben, was zu einem unanfechtbaren Schlusse berechtigte. Die Lösungsmittel konnten natürlich nur in der Kälte angewendet

<sup>1)</sup> L. cit., S. 487.



werden, sollten sie Beweiskraft haben, und mussten leicht flüchtig sein.

Schwefelkohlenstoff, Petroleumäther, Benzol, Chloroform lösten alle mehr oder weniger von beiden Substanzen auf. Wurden die nach dem Verdunsten bleibenden Rückstände aber aus wenig warmem Alkohol zum Krystallisiren gebracht, so erhielt man in einem Falle die Formen des Protagon, im anderen die des Cerebrin.

Wenn man dem Verhalten gegen Alkohol und Aether keine Beweiskraft beilegt, so darf man es hier also auch nicht, und deshalb gab ich diese Versuche auf.

Dass eine anderweite energischere Behandlung des Protagon als die vorigen, wie sie z. B. auch von Diakonow angewandt worden, natürlich noch weitere Zersetzung und Abspaltung von P bedingt und man schliesslich dadurch ein P-freies Cerebrin erhält, ist eigentlich selbstverständlich und kann nicht als Beweis gegen die Existenzfähigkeit des Protagons dienen.

Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> theilt mit, dass er aus dem nach Extraktion mit kaltem Weingeist und öfterer Behandlung mit Aether bleibenden Rückstände der Eiterkörperchen mit heissem Alkohol ein Cerebrin ausgezogen habe, dessen erste beim Erkalten des Alkohols ausfallende Portion 1,022 % P, die zweite dann 0,991 % P enthielt. Der Rest durch Eindampfen bei 60° aus der Mutterlauge gewonnen ergab 1,502 % P.

Die ersten beiden Portionen krystallisirten deutlich in Nadeln und enthielten annähernd so viel P als das Protagon nach Blankenhorn & Gamgee und meinen Analysen.

Der Rest stellte eine amorphe etwas klebrige Masse dar, deren P-Gehalt nahe dem des Liebreich'schen Protagon liegt.

Diese Erscheinungen habe ich auch öfter beim Gehirne zu beobachten Gelegenheit gehabt, als es mir im Anfange dieser Untersuchung noch nicht gelang, vor der Extraktion des Protagons völlige Erschüpfung mit Aether zu erzielen. Nachdem dies aber durch die Diffusions-Extraktion gelungen war, lieferte die Mutterlauge von dem durch 85 % Weingeist bei 45° gewonnenen Protagon, nachdem dieselbe durch Ab-

1) Medicinisch-chemische Untersuchungen, Bd. IV, S. 488.

kühlen mit Kochsalz und Eis von dem letzten Krystallisirenden befreit worden, beim Eindampfen nur ausserordentlich geringe Mengen eines bröckligen Rückstandes. Derselbe enthielt nach verschiedenen Bestimmungen allerdings immer mehr P als Protagon (1,099—1,307%), rührte aber sicher nur von Spuren noch beigemengter Verunreinigungen, nicht von durch Behandlung mit Alkohol in der Wärme zersetztem Protagon her, denn jedes folgende Umkrystallisiren desselben lieferte immer weniger von diesem Rückstande.

Eine fernere Frage ist aber die: Ist das Protagon des Eiters identisch mit dem des Gehirnes oder eine diesem nur ähnliche Verbindung?

Für Letzteres spricht die Angabe Hoppe-Seyler's, dass er daraus ein Cerebrin, d. h. eine glycosidartige Substanz, isolirte, deren N-Gehalt durch Kochen mit Barytwasser niemals ganz zu beseitigen war und nur 1,9% betrug, während Müller 4,55% und wiederum Bourgoïn 2,29%, Geoghegan 1,44% im Gehirn-Cerebrin fanden. Dann, was das Bemerkenswertheste ist, erhielt Hoppe-Seyler beim Zersetzen des Eiter-Cerebrin neben Zucker nur ölige nicht krystallisirende Körper, während bei gleicher Behandlung des Gehirn-Cerebrin gut krystallisirende Verbindungen neben der reducirenden Substanz erhalten wurden.

In dem Vorigen habe ich die beiden Gründe, die gegen die Existenz des Protagon angeführt werden, besprochen. Es wäre noch ein weiterer Beweis für die Richtigkeit dieser Ansicht und das freie Vorkommen des Lecithin gegeben, wenn man mit einiger Leichtigkeit Lecithin frei aus dem Gehirn gewinnen könnte, wie z. B. das Cholesterin. Dasselbe ist aber nur einmal von Diakonow<sup>1)</sup> aus dem Gehirne dargestellt und zwar auf dieselbe Weise wie aus dem Eidotter, indem es dort zunächst mit dem Vitellin, hier mit dem Cerebrin oder Protagon isolirt und dann erst diesem Gemenge durch Lösungsmittel entzogen wird. Doch lieferte das so gewonnene Material bei den Analysen für P und N nur wenig befriedigende Resultate.

<sup>1)</sup> Medicinisches Centralblatt 1868.



Zunächst also widersteht nach diesem Verfahren das Lecithin der Extraktion mit Aether, denn diese geht der Abscheidung des Vitellin und des Protagon voran; wenn man aber das Vitellin mit Wasser gefällt oder das Protagon mit Alkohol bei 40° isolirt hat, dann kann man beiden das Lecithin entziehen, einmal mit Alkohol bei 50—60° dem Vitellin, im anderen Falle dem Protagon durch Aether von gewöhnlicher Temperatur.

Danach müsste man annehmen, das Eiweiss des Vitellin oder das Cerebrin des Protagon vermöge das Lecithin gewissermassen conservirend auf sich niederzuschlagen und dadurch, trotzdem es etwas ganz Heterogenes, als eine Verunreinigung also, vor weiterer Zersetzung zu bewahren.

Ich glaube, man könnte auch folgendermassen argumentiren und nach diesem Gedankengange der Sache nachforschen:

Das Lecithin findet sich immer in innigster Wechselbeziehung zu anderen Verbindungen in den Flüssigkeiten, in denen es vorkommt. Es geht mit verschiedenen zum Lebensprocess nothwendigen Stoffen Verbindungen ein von wechselndem Molecularverhältnisse. Je mehr Molecüle Lecithin in diese Verbindungen eingetreten sind, um so leichter zersetzbar sind dieselben, je weniger, um so stabiler. Für jede solche Verbindungsmöglichkeit wird es eine Grenzverbindung geben, bei der die leichteste Zerfallbarkeit aufhört: das ist im Gehirn bei dem Protagon der Fall, im Eidotter bei den Krystalloiden desselben. Da wo wir bis jetzt das Lecithin nur aus seinem Zersetzungsprodukte nachweisen können, haben wir noch nicht gelernt, die betreffenden Verbindungen desselben zu isoliren.

Wir könnten dann vielleicht auf die Strecker'sche Constitutions-Formel des Lecithin zurückgehen, nach der es erklärlich findet, dass dasselbe eine Säure, eine Base und ein Fett sein kann.<sup>1)</sup> Auch Hundeshagen's<sup>2)</sup> Untersuchungen sprechen für die Wahrscheinlichkeit derselben.

1) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 148, S. 98.

2) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 28, S. 244.

Was wäre aber ausser der Uebereinstimmung von Zusammensetzung und Eigenschaften der auf verschiedenem Wege erhaltenen Präparate noch weiter zu Gunsten der Einheitlichkeit des Protagon anzuführen?

Um diese Frage beantworten zu können, müssen wir zunächst untersuchen, was eigentlich Cerebrin ist.

Als solches werden gewisse phosphorfreie glycosidartige Verbindungen bezeichnet, die man durch Kochen der Gehirnmasse mit Barytwasser, Ausziehen des resultirenden Coagulums mit heissem Alkohol und Reinigen des gewonnenen Produktes mit Aether darstellen kann.

Als solche Verbindung werden aber, ohne dass eine Beziehung zwischen den einzelnen bis jetzt ermittelt, eine ganze Reihe beschrieben.

In der vierten Auflage S. 195 von Hoppe-Seyler's Handbuch der physiol.-patholog. Analyse wird als Cerebrin angeführt nach Müller<sup>1)</sup> eine Verbindung mit 4,50% N, welche sich über 80° bräunt, bei stärkerem Erhitzen schmilzt und sich unter Aufschäumen zerlegt. In der 5. Auflage S. 127 wird, ohne Müller's Cerebrin zu erwähnen, als solches nach Geoghegan<sup>2)</sup> eine Verbindung mit 1,44% N beschrieben, deren Eigenschaften mit den in der 4. Auflage angegebenen übereinstimmen, mit der Ausnahme, dass des Bräunens über 80° nicht Erwähnung geschieht. Geoghegan verweist l. c. in Bezug auf die Eigenschaften ganz auf die 4. Auflage. Daneben sind als wahrscheinlich nicht ganz reines Cerebrin erwähnt von Parcus<sup>3)</sup> 1. das Cerebrin mit 2,13% N, 2. das Homocerebrin mit 2,23% N und 3. das Encephalin mit 3,09% N, deren Schmelztemperaturen von demselben über 160°, 155°, 150° angegeben werden bei Zersetzungsanfang bei 145°, 130°, 125°.

Das wäre also eine ganze Reihe von wesentlich verschiedenen Verbindungen, die, auf demselben Wege gewonnen, den Anspruch erheben können, den Namen Cerebrin zu

1) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 105, S. 361.

2) Diese Zeitschrift. Bd. III, S. 332.

3) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 24, S. 310.



führen, trotzdem die ganze Technik der Darstellung aus dem Rohmaterial eine so überaus einfache ist.

Bei einer früheren Gelegenheit habe ich noch eine solche Verbindung nach Bourgoïn angeführt und Thudichum nimmt sogar eine ganze Gruppe von Cerebrinen im Gehirne an.

Mit welcher von diesen Verbindungen gemengt, giebt Lecithin das Protagon? Welches ist also das wahre Cerebrin und in welcher Beziehung stehen die anderen zu diesem? Ist das Protagon ein solches Gemenge, so muss nach meiner und Blankenhorn & Gamgee's Formel in ihm enthalten sein neben 27 Theilen Lecithin 73 Theile Cerebrin.

Was für die Gehirnmasse gilt, muss dann auch für das Protagon gelten: d. h. man muss durch Behandeln desselben mit Barytwasser Cerebrin daraus darstellen können. Der Versuch ist schon von Liebreich<sup>1)</sup> und Diakonow<sup>2)</sup> gemacht worden. Die gewonnene Verbindung ist aber, wie mir scheint, als identisch mit Müller's Cerebrin angesehen und nicht weiter untersucht worden. Es wird von Letzterem als phosphorfrees Glycosid bezeichnet. Besonders ist aber zu berücksichtigen, dass man entschieden das Cerebrin reiner aus dem Protagon als aus der ganzen Gehirnmasse gewinnen wird.

Ich habe durch Behandeln mit Barytwasser aus meinem reinen Protagon Cerebrin darzustellen versucht und bin dabei bei einiger Modifikation des Verfahrens zu folgenden Erfahrungen gekommen. Die bei dieser Untersuchung bis jetzt gewonnenen analytischen Resultate will ich, als noch nicht unbedingt feststehend, in dieser Abhandlung übergehen, besonders da sie für meine nächsten Zwecke keine wesentliche Bedeutung haben. Ich will nur die physikalischen Eigenschaften der von mir gewonnenen und als mit constanten Eigenschaften begabten erkannten Verbindungen, soweit dieselben von Wichtigkeit für uns sind, berühren.

Wenn man Protagon mit Barytwasser einige Zeit im Wasserbade gegen 100° erwärmt, so erhält man durch Aus-

1) Virchow's Archiv, Bd. 39, 1867.

2) Medicinisches Centralblatt 1868, S. 97.

kochen des ungelösten Rückstandes mit Alkohol eine in grossen ovalen Körnern beim Erkalten ausfallende Substanz, die sich unverändert in dieser Form mit kochendem Alkohol umkrystallisiren lässt. Dieselbe ist P-frei und nach mehrmaligen Umkrystallisiren auch aschenfrei. Das Lecithin ist also zersetzt und sie enthält keine Baryumseifen mehr.

Ihr Schmelzpunkt liegt bei  $194^{\circ}$ . Ehe sie schmilzt, bräunt sie sich über  $150^{\circ}$  in ganz geringem Grade. Ueber  $200^{\circ}$  (gegen  $220^{\circ}$ ) fängt sie an zu sieden und sich zu zersetzen.

An der Luft im Wasserbade erhitzt, verhält sie sich genau wie das Protagon. Etwas unter  $100^{\circ}$  schon zersetzt sie sich unter allmählichem Gelbwerden. Zugleich sinkt der Schmelzpunkt bedeutend.

Wird diese Verbindung mit sehr concentrirtem Barytwasser anhaltend gekocht, so tritt weitere Zersetzung ein. Man erhält schliesslich keine grossen ovalen Körner mehr, sondern kleine runde Kugeln. Dieselben gewinnt man auch durch direktes Kochen des Protagons mit concentrirtem Barytwasser. Sie werden auch durch anhaltendes Kochen mit diesem nicht weiter verändert.

Diese Substanz fängt, ohne sich zu färben, unter  $160^{\circ}$  an zu erweichen; bei  $177^{\circ}$  fängt sie an zu schmelzen und ist bei  $180^{\circ}$  völlig geschmolzen. Auch bei ihr fängt Gasentwicklung erst weit über  $200^{\circ}$  an.

An der Luft im Wasserbade erhitzt, verträgt sie  $100^{\circ}$  lange Zeit, ohne sich äusserlich zu verändern. Der Schmelzpunkt wird ebenfalls dadurch nicht geändert.

Beide Verbindungen mit verdünnten Säuren erwärmt, liefern eine stark reducirende Substanz.

Es findet danach also ein allmählicher Uebergang vom Protagon zu einem durch Barytwasser nicht mehr veränderlichen Cerebrin statt, der verbunden ist mit einem Sinken des Schmelzpunktes ( $200^{\circ}$ — $194^{\circ}$  -  $177^{\circ}$ ), aber mit einer Zunahme der Widerstandsfähigkeit der niedriger schmelzenden Verbindung.



Das Letztere ist nach Müller's und Geoghegan's Angaben bei ihren Cerebrinen nicht der Fall. Danach ist aber um so wahrscheinlicher, dass sie ebenfalls wie die von Parcus dargestellten Verbindungen bei niedrigerer Temperatur schmelzen werden als das Protagon.

Durch die Einwirkung von Barytwasser werden also unter allen Umständen Verbindungen von einem niedrigeren Schmelzpunkte aus dem Protagon erhalten, als dieses selbst besitzt.

Hätten wir es nun im Protagon mit einem Gemenge von 73 Theilen Cerebrin mit 27 Theilen Lecithin zu thun, so wäre doch eher anzunehmen, dass mit der Fortnahme des Letzteren als einer «knetbaren»<sup>1)</sup> Substanz der Schmelzpunkt steigen würde.

Die Zersetzungs- und Schmelztemperatur des Lecithins wird sicher nach seinem sonstigen ganzen Verhalten unter dem Schmelzpunkt 177°, der zweiten von mir aus dem Protagon isolirten Verbindung liegen. Angaben darüber fehlen allerdings gänzlich.

Dann mussten sich schon unter dieser Temperatur die 27% Lecithin im Protagon wesentlich bemerklich machen. Statt dessen sehen wir nur eine geringe Bräunung gegen 150°, die auch noch bei der ersten daraus erhaltenen Verbindung sich zeigt, nachdem das etwa vorhandene Lecithin sicher bereits zerstört worden ist. Ferner verträgt dieser Körper ebensowenig wie das Protagon bei Luftzutritt 100° ohne allmälige Zersetzung zu erleiden.

Der zweite dagegen wird weder bei 150° im Capillarrohr verändert, noch durch tagelanges Erhitzen auf 100° bei Luftzutritt.

Danach kann eine einfache Beseitigung des Lecithins nicht die Bildung des Cerebrins aus dem Protagon hervorrufen. Diese Beseitigung ist mit dem ersten Prozesse, wenn Lecithin überhaupt vorhanden, schon vollendet. Etwas

---

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Aufl., S. 166.

ist aus dem Protagon fortgenommen, so dass eine nun gegen Alkohol, sowohl was Stärke desselben, als was Temperatur betrifft, resistenter Verbindung entstanden ist. Aus dieser Verbindung wird erst durch weitere Einwirkung des Barythydrats das noch resistenter Cerebrin.

Anzunehmen, dass noch Spaltungsprodukte des Lecithins in der ersten Uebergangsverbindung vorhanden gewesen und durch deren Fortnahme erst die zweite entstanden, ist nicht wohl thunlich. Baryumseifen sind nicht mehr darin, Glycerinphosphorsäure kann nicht mehr vorhanden sein. Beider Abwesenheit ist bewiesen. Also bliebe nur noch das Neurin als einzige Möglichkeit!

Ist aber dieses oder Fettsäure oder Glycerin bei der ersten Verbindung aus dem Protagon trotz des Barythydrats geblieben, so würde diese eigenthümliche Erscheinung wiederum dafür sprechen, dass das etwa vorhandene Lecithin in Verbindung mit Cerebrin und zwar so war, dass seine Componenten nur nach und nach aus dem Protagon losgelöst werden können.

Hierzu ist ferner zu bemerken: Wenn man Protagon mit Barytwasser längere Zeit kocht, die wässrige Lösung abfiltrirt und dem nun bleibenden Gemenge von Cerebrin und Bariumseifen das Erstere mit Alkohol unter 80° entzieht, so erhält man zunächst ein unreines Cerebrin, dem noch ein Theil der Spaltungsprodukte, die bei dem ganzen Prozesse auftreten, anhaften. Durch diese Beimengungen wird der Schmelzpunkt für die erste Krystallisation weit unter 170° herabgedrückt. Erst die vierte liefert ein Produkt von über 170° Schmelzpunkt. Danach würde das Cerebrin gemengt mit einem kleinen Theile der Zersetzungsprodukte des Lecithin um 40°—50° niedriger schmelzen, als wenn ihm noch das unzersetzte Lecithin beigemengt ist.

Auf einen ferneren Punkt muss ich wieder zurückkommen, obgleich Blankenhorn & Gamgee desselben schon Erwähnung thun. Das Lecithin ist nach Diakonow<sup>1)</sup> ein sehr hygroskopischer Körper. Das Cerebrin ist nach meinen

1) Medicinisches Centralblatt 1868, S. 77.



Erfahrungen entgegen den von Blankenhorn & Gamgee aus Hoppe-Seyler's Handbuch der physiol.-patholog.-chemisch. Analyse 3. Auflage 1869 — (in der fünften Auflage fehlt diese Angabe) — geschöpften Angaben ein durchaus nicht hygroskopischer Körper. Danach würden also auch hier die 73 Theile Cerebrin von den beigemengten 27 Theilen Lecithin nicht beeinflusst, sondern die Eigenschaften des Cerebrin paralisirten wieder völlig die des Lecithin, denn das Protagon ist nach allen Beobachtungen nicht hygroskopisch; allerdings beschreibt auch Liebreich sein Protagon, mit 10% Lecithin mehr als das unserige, als ebenfalls nicht hygroskopisch.

Auch hierzu kann ich nur bemerken, dass die ersten noch nicht ganz reinen Protagon-Präparate beim Beginne dieser Arbeit sich mir als so hygroskopisch erwiesen, dass ich mich zum Zwecke der sicheren Wägungen nach besonderen Apparaten umsahe, um diesem Uebelstande zu begegnen. Dieselben wurden später gar nicht mehr in Gebrauch gezogen, da sie sich für die reinen Präparate als gänzlich überflüssig erwiesen.

Die Beimengungen, die diese Eigenschaft der Präparate hervorriefen, waren aber sehr gering, wie auch hier die P-Bestimmungen zeigten, und leicht mit Aether zu beseitigen. Also hier dieselben Verhältnisse wie beim Schmelzpunkte.

Diese, wie mir scheint, gewichtigen zwei Gründe: 1. der constante Schmelzpunkt des Protagon, der höher liegt als derjenige des daraus isolirbaren Cerebrins, 2. das Fehlen des Bestrebens, Feuchtigkeit anzuziehen, neben der Thatsache, dass dem Protagon durch kalten Aether oder mit 40—45° warmem Alkohol von 85° nicht mehr P entzogen werden kann, als die von mir und Blankenhorn & Gamgee ermittelten Zahlen, wie schon Diakonow fand, erfordern, sprechen mit grösster Wahrscheinlichkeit dafür, dass die Bestandtheile des Lecithin in ihm mit dem Cerebrin in chemischer Verbindung sein müssen. Lecithin in Substanz ist noch nicht aus unserem Protagonen dargestellt.

Das Lecithin, was Diakonow aus dem Protagon erhalten, war aber demselben beigemengt als freies Lecithin

oder in lockerster Verbindung mit dem eigentlichen Protagon. Den etwa in diesem noch vorhandenen Rest erhält man nur durch Zerstörung der Verbindung; aber dann auch nur Zersetzungsprodukte, die man gewohnt ist, als beweisend für die Gegenwart des Lecithin anzusehen.

Das reine Protagon ist eine unverändert aus nicht zu starkem Alkohol bei 45° unkrystallisirbare Verbindung, die gegen chemische Agentien eine verhältnissmässig grosse Widerstandsfähigkeit besitzt; man muss lange mit Barytwasser kochen, um das phosphorfreie Cerebrin daraus zu gewinnen.

So wie bisher dasselbe dargestellt worden, war es aber nicht durch einmaliges Umkrystallisiren zu reinigen. Man muss wiederholt, wie Blankenhorn & Gamgee verfahren, aus warmem Alkohol umkrystallisiren und mit Aether extrahiren, um diesen Zweck zu erreichen. Es hält hartnäckig fremde P-haltige Stoffe zurück (das Cholesterin ist leicht zu entfernen), die sich dadurch bemerklich machen, dass sie erstens den Schmelzpunkt des Protagon erniedrigen, und zweitens, dass sie einen höheren P-Gehalt, als dem Protagon zukommt, in die letzte Mutterlauge bringen.

Diese verunreinigenden Verbindungen sind meiner Benennung nach keine Gehirnstoffe, sondern Zersetzungsprodukte von diesen. Sie sind zum Theil solche, die durch alkalische Reaction, unter anderen Umständen solche, die durch saure Reaction den Grund zur Zersetzung des Protagon legen. Durch ihre Abspaltung aus ursprünglich vorhandenem Protagon entstehen andererseits wieder Verbindungen mit geringerm P-Gehalt oder auch P-freie.

Meistens sind diese in das Protagon schon bei der ersten Bearbeitung der Gehirne gebracht worden und dann ausserordentlich schwer zu entfernen.

Von ihnen rühren zum Theil die Zweifel an der Existenzfähigkeit des Protagon her; zum Theil stammen aus dieser Quelle die mancherlei verschiedenen, auch in neuerer Zeit wieder beschriebenen Gehirnstoffe.

Im Grossen und Ganzen liegen die Verhältnisse viel einfacher, als aus den Arbeiten von Thudichum und Parcus



hervorzugehen scheint. Die Grundlage zur Erkenntniss der Verhältnisse findet sich bereits in den klassischen Arbeiten von Vauquelin, Couerbe und Frémy. Zum Theil durch v. Bibra's, wesentlich aber durch Müller's Untersuchungen wurden Zweifel an den gewonnenen Resultaten rege, trotzdem diese nur eines ruhigen Fortschreitens auf dem betretenen Wege bedurft hätten, um zum Ziele zu führen. Man vergass, nach den ursprünglichen Gehirnstoffen zu suchen. Erst Liebreich kehrte wieder auf den richtigen Weg zurück, während die Arbeiten von Goble, Hoppe-Seyler, Diakonow, Parcke und Strecker Licht verbreiteten über das Vorkommen und das Wesen der Lecithine.

Ich habe bis jetzt beim Arbeiten nach meiner Methode, wenn ich auch die Versuche dazu in der mannigfachsten Weise modificirte, niemals freies Cerebrin im Gehirne finden können. Wurde mit allen Cautelen gearbeitet, so wurde reines Protagon isolirt; wurde weniger vorsichtig verfahren, so erhielt ich immer noch P-haltige Zersetzungsprodukte desselben, niemals ein P-freies Cerebrin. Dieses wurde nur durch Kochen mit Barytwasser gewonnen.

Weitere Aufklärung erhoffe ich zu bringen, wenn es mir möglich geworden, nach Darstellung genügender Mengen reinen Protagon's nach meiner Methode, die Zersetzungsprodukte desselben quantitativ zu studiren. Besonders werde ich die durch Alkalien hervorgerufenen Spaltungen einer erneuten Untersuchung unterziehen, um wo möglich die Ursache der so verschiedenen analytischen Resultate in Bezug auf das Cerebrin erklären zu können.

### III.

#### Quantitative Untersuchung.

Ich versuchte auf Grund der bei dieser Trennungsmethode der Gehirnbestandtheile gemachten Erfahrungen eine quantitative Bestimmung derselben, um womöglich aus den gefundenen Zahlen zu ersehen, ob und wo die fernere Untersuchung vorzugehen habe. Zugleich ging nebenher noth-

wendigerweise eine Bestimmung des Phosphors in den einzelnen auf diese Weise gewonnenen Abtheilungen, um einen Ueberblick über dessen Vertheilung in denselben zu gewinnen.

Wenn auch die ermittelten Zahlen in vieler Beziehung, wie ich mir nicht verhehle, zu bemängeln und durchaus nicht einwurfsfrei sind, so glaube ich es doch erreicht zu haben, dass sie sich möglichst der Wahrheit nähern. Es ist dies eben der erste Versuch zur Anwendung der neuen Erforschungsmethode des Gesamtgehirns; der aber darin seine Berechtigung findet, dass er auf sehr viele einzelne Vorversuche gegründet ist. Die bei denselben gewonnenen Resultate wurden erst zu dieser quantitativen Untersuchung ausgenutzt, nachdem sie sich bei sehr häufiger Wiederholung als stichhaltig erwiesen hatten. Es sind also die gefundenen Zahlen gewissermassen der Ausdruck für erfahrungsmässig sich wiederholende Verhältnisse. Sie sind nicht nur gültig für diesen einzelnen Fall, sondern geben ein typisches Bild für das Gehirn im Allgemeinen ab.

Es wurden dann neben den beiden eigentlichen quantitativen Analysen noch zwei qualitative Untersuchungen gleichmässig fortgeführt, um da, wo Etwas sich als unsicher für die Bearbeitung herausstellen sollte, ohne Schaden für den Gang der Ersteren, Versuche anstellen zu können. Auf diese Weise gelang es, die beiden Untersuchungen ohne Störung zu Ende zu bringen.

Um Wiederholungen zu vermeiden, will ich bemerken:

I. Albumin, Extrakte u. s. w. wurden getrocknet durch tagelanges Erhitzen auf  $100^{\circ}$  im Trockenschrank mit wassergefüllten Doppelwänden bis zum constanten Gewichte.

II. Die Aschenbestimmungen wurden durch direktes langsames Verbrennen im Platintiegel ausgeführt.

III. Die Phosphorbestimmungen wurden aus den Aschen, wo solche zu bestimmen, sonst durch Verbrennen der Substanz mit Soda und Salpeter und dann nach der Molybdänsäure-Magnesia-Methode gemacht.



IV. Asche und Phosphor für die Filter wurde nicht abgezogen, da das von Warmbrunn und Quilitz bezogene Papier N00 sich als nahezu aschen- und ganz P-frei erwies.

V. Die organischen Bestandtheile von Albumin, Extrakt u. s. w. sind aschenfrei angegeben. Die Asche ist besonders berechnet.

Bei diesen Analysen wurde dahin gestrebt, zugleich auch eine annähernde Kenntniss der Zusammensetzung der grauen und weissen Substanz zu erhalten. Da deren mechanische Trennung nicht möglich ist, so wurden von einem grossen Pferdegehirne, das unmittelbar nach dem Tode des Thieres in die Aetheratmosphäre gebracht und darin möglichst von Blut befreit war, mit dem Messer Stücke abgeschnitten und je nach ihrem grösseren Gehalt an grauer oder weisser Substanz gesondert gewogen. Es wurde, um möglichst rasch zu arbeiten, nicht ängstlich gesucht beide Substanzen, soweit sonst thunlich, zu trennen, sondern nur danach gestrebt, überwiegend in jeder Portion eine von Beiden zu haben.

VI. Ich werde die beiden Portionen in dem Folgenden je nach dem Vorwiegen der einen oder der anderen Substanz einfach als weisse und graue Substanz bezeichnen und die erstere wie in der Tabelle links, die andere rechts in den Parallelzahlen anführen.

VII. Es wurden zur Untersuchung genommen:

Weisse Substanz = 107,60 gr.

Graue Substanz = 116,03 gr.

Doch sind nur die auf 100 gr. berechneten Zahlen für beide Reihen in der Tabelle gegeben.

#### Diffusion.

In je einem tarirten Trichter, der durch einen mit Glaswolle gefüllten Platinconus verschlossen war, wurden die Portionen möglichst rasch gewogen. Damit die Fäden der Glaswolle nicht mit den Gehirnscheiben in Berührung kämen, war ein Scheibchen glattesten, aschefreien Filtrirpapieres auf dieselbe gelegt. Dasselbe liess sich später leicht entfernen;

während ein grösseres Filter hinderlich gewesen wäre. Die Trichter wurden dann auf Bechergläser gesetzt, so dass das Ende des Trichterrohres noch etwa 4 cm. vom Boden derselben entfernt war, und das Ganze darauf in grössere mit aufgeschliffener Glasplatte verschliessbare Gläser in alkoholfreien Aether versenkt. Sofort begann die Diffusion und wurde so lange fortgesetzt unter zeitweiser Erneuerung des Aethers, bis derselbe beim Abdestilliren kaum noch einen Rückstand liess. Dies war bei der weissen Substanz am 29. Tage, bei der grauen Substanz am 35. Tage erst erreicht. Der Austritt von Wasser hatte bei beiden schon viel früher aufgehört. Dass der Aether gar keinen Rückstand hinterliess war nicht zu erreichen, weil, wie ich schon zeigte, die später durch Alkohol zu gewinnende Substanz etwas, aber schwer, in kaltem Aether löslich ist.

#### Wasserextrakt.

Das Wasserextrakt sammelte sich in dem Becherglase an und wurde in diesem wiederholt mit Aether gewaschen, um alles darin Lösliche abzutrennen. Aus demselben schied sich coagulirtes Albumin aus; dasselbe wurde auf einem gewogenen Filter gesammelt und mit einer gemessenen Quantität (200 ccm.) Wasser ausgewaschen, feucht gewogen, dann getrocknet und wieder gewogen. Vergleichsversuche hatten gezeigt, dass 200 ccm. Wasser zum Auswaschen völlig genügten.

Die Zunahme des Waschwassers plus dem Trockenverlust des Filters plus der Differenz zwischen dem feucht und trocken gewogenen Becherglase ergaben die Menge des Diffusionswassers.

Das Waschwasser wurde eingedampft, wobei das gelöste Albumin coagulirte. Dies wurde ebenfalls quantitativ bestimmt und der nun albuminfreie Extrakt eingedampft, getrocknet und gewogen.

Die beiden Albuminabscheidungen jeder Portion wurden verascht und in der Gesamttasche, weil beide einzelnen Mengen zu gering erschienen, und in der Asche des Extraktes der P bestimmt.



Es wurden fast gleiche Zahlen für graue und weisse Substanz, berechnet in Procenten auf das Feste des Wasserextraktes gefunden:

14,48%	Albumin direkt coagulirt . . . . .	15,39%
12,87	« durch Kochen coagulirt . . . . .	13,12
0,46	« Asche für 1 . . . . .	0,49
0,21	« Asche für 2 . . . . .	0,21
55,19	« Extrakt organisch . . . . .	55,25
16,77	« Extrakt Asche . . . . .	15,53

Nur wurde etwas mehr freiwillig coagulirtes Albumin in II als in I gefunden und weniger Asche in dem albumin-freien Extrakte von II als von I. Diese Differenz auf eine Verschiedenheit des Wasserextraktes der grauen und weissen Substanz zurückzuführen halte ich für sehr gewagt. Umso-mehr da der Gehalt des Diffusionswassers an fester Substanz fast genau denselben Procentsatz zeigt:

3,528%                      3,639%

Die Zahlen für den P-Gehalt der Asche des Albumins nähern sich denen für neutrales phosphorsaures Calcium = 20%, nämlich:

17,948%                      16,666%

Doch brauste die Albuminasche etwas mit Säuren auf und in der Lösung derselben war Magnesium nachweisbar,

Der P-Gehalt der Extrakt-Asche wurde, wie zu erwarten, da neben Cl und  $\text{SH}_2\text{O}_4$  noch  $\text{CO}_2$  nachweisbar, viel niedriger aber annähernd übereinstimmend gefunden:

10,087%                      9,443%

Das sind Zahlen, die wiederum für die Gleichartigkeit der beiden Extrakte sprechen.

Dagegen war die Gesamtquantität der diffundirten Flüssigkeit geringer bei der weissen als der grauen Substanz:

44,410%                      58,528%

Dieser Befund entspricht allerdings der schon länger bekannten Thatsache, dass die graue Substanz mehr Wasser enthält als die weisse, doch verhielt sich die nicht zur Diffusion zu bringende Menge anders. Diese letztere ergibt sich aus der Differenz der gesammten festen Bestandtheile gegenüber der zur Analyse genommenen Quantität. Dieselbe

verhielt sich gerade umgekehrt, d. h. es war mehr Wasser von der weissen Substanz zurückgehalten worden als von der grauen. Beide enthielten noch nach beendeter Diffusion:

25,125%

18,469%

Diese Differenz von:

14,644 %

$$\text{(denn } \frac{58,528 \times 25,125}{44,410} = 33,113 \text{ und } 33,113 - 18,469 = 14,644)$$

gegen das zu erwartende Verhältniss kann nicht durch Versuchsfehler verursacht sein. Sie muss in der Natur der beiden Substanzen ihre Begründung haben, besonders da die graue Substanz länger im Aether sich befand als die weisse.

#### Alkohol, kalt.

Nach Beendigung der Diffusion wurde der feste Rückstand zunächst mehrmals mit 85 procent., dann mit 95 procent. und endlich mit ganz absolutem Alkohol in einem mit aufgeschliffener Glasplatte verschliessbarem und mit derselben zusammen tarirten Becherglase übergossen, um denselben zu entwässern. Diese Operation wurde unter 0° vollendet, da bei dieser Temperatur nicht zu befürchten war, dass sich etwa von dem später bei 45° durch Alkohol zu entfernenden auflöste. Der Alkohol löste aber noch Substanzen auf, besonders der verdünntere. Derselbe wurde immer durch ein kleines getrocknetes und tarirtes Filter abgossen und bei möglichst niedriger Temperatur (45°) verdunstet. Der Rückstand schied sich in einen in Aether löslichen und in Wasser unlöslichen, einen in Aether unlöslichen, aber in Wasser löslichen und einen in beiden Lösungsmitteln unlöslichen Theil. Der im Aether lösliche wurde zum Aetherextrakt gegeben, die beiden anderen quantitativ bestimmt.

Der in Wasser unlösliche erwies sich als Eiweiss mit Asche:

4,99%

4,23%

in welcher in beiden zusammen:

12,979% P.

Also enthielt er mehr Asche, als beide Albumine des Diffusionswassers mit:



3,10%  
1,64 «      und      3,11%  
1,58 «

aber weniger P, denn diese enthielten:

17,948%  
und      16,666%

Der im Wasser lösliche Theil hatte Geruch und Geschmack des Fleischextraktes und enthielt Asche:

14,27%  
und      15,10%

in welcher in beiden zusammen:

6,056% P.

Also enthielt es weniger Asche, als das Extrakt des Diffusionswassers mit:

23,31%  
und      21,25%

und weniger P, denn dieses enthielt:

10,087%  
und      9,448%

Beide Substanzen, als in dem nicht diffundirten Wasser enthalten angenommen und auf dieses berechnet, geben wieder fast gleiche Zahlen:

1,79% das Unlösliche 2,27%

3,76 « das Lösliche 4,09 «

Da also auch diese Wasserextrakte nahezu gleich zusammengesetzt, so scheint in der That die obige Differenz in Bezug auf das nicht diffundirte Wasser auf dem verschiedenen Vermögen der beiden Substanzen, die wässrige Flüssigkeit physikalisch zurückzuhalten oder diffundiren zu lassen, zu beruhen.

Dass übrigens die beiden eben besprochenen Extrakte von dem nur in Aether oder Alkohol Löslichen der Gehirns-Substanz wirklich ganz unabhängig waren und nur dem wässrigen Extrakte angehörten, geht aus Folgendem hervor: Nach dem Ausfällen der Phosphorsäure durch überschüssiges Barytwasser aus dem durch möglichst vorsichtiges Eindampfen von Alkohol befreiten und dann mit Aether erschöpften Extrakte gab das Filtrat vom phosphorsauren Baryum keine Reaktion auf Phosphorsäure mehr, wenn dasselbe auch längere Zeit mit Salzsäure gekocht wurde.

Ueberall, wo man mit Zersetzungsprodukten der alkoholischen oder ätherischen Gehirnextrakte zu thun hat, wird

man Phosphorsäure aus unzersetzter Glycerinphosphorsäure stammend auf diesem Wege nachweisen können.

Wenden wir uns zunächst dem bei 45° gewonnenen Alkoholextrakte zu. Dasselbe wurde folgendermassen quantitativ bestimmt.

#### Alkohol bei 45°.

Der Rückstand von der Aetherdiffusion, der dann mit kaltem Alkohol behandelt worden, nebst dem kleinen Filter, durch das der kalte Alkohol abgegossen, wurden in dem vorhin erwähnten Becherglase zunächst über  $\text{SH}_2\text{O}_4$  von dem anhaftenden absoluten Alkohol befreit, dann im Vacuum bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen. Darauf wurde das Filter wieder in einen Trichter gebracht, der Inhalt des Becherglases in diesem mit 85procent. Alkohol bei 45° wiederholt extrahirt und der Alkohol jedesmal durch das tarirte Filter bei derselben Temperatur abfiltrirt. Nachdem eine, von einem ganz gleichmässig geführten Parallelversuche abfiltrirte Alkoholprobe beim Verdunsten keinen Rückstand mehr liess, wurde noch 3mal mit Alkohol bei 45° extrahirt, um auch das Filter damit sicher zu erschöpfen; dann wurde es zu dem Inhalte des Becherglases wieder zurückgegeben, dieses wie vorhin getrocknet und gewogen. Die Gewichts-differenz musste den Gehalt an Protagon angeben. Die so gewonnenen Zahlen entsprechen nach der Tabelle:

	2,5110%	1,0800%
der wasserhaltigen Gehirnmasse; oder		
	8,2420%	4,6950%
der trockenen mit P in Procenten der trockenen:		
	0,0847%	0,0482%

Danach ist es wahrscheinlich, dass dieser Auszug ausschliesslich der weissen Substanz angehört.

Die durch Abkühlen erhaltenen blendendweissen Krystalle der bei 45° gelösten Substanz werden noch einmal aus weniger Alkohol bei 45° umkrystallisirt. Die erste und zweite Krystallisation zeigten die gleiche Form der Krystalle, wie sie oben schon beschrieben, ohne eine Spur kugliger oder knolliger Massen.



Bei dem Erhitzen im Capillarrohr zeigten beide dieselben Erscheinungen, wie sie schon oben angegeben:

150—160° schwache Bräunung;  
 gegen 200° Schmelzpunkt;  
 220° Sieden und Gasentwicklung unter Bräunung.

Von der zweiten Krystallisation gaben:

1,4810 gr. Substanz	—	0,0548 nr. $P_2Mg_2O_7$
		— 1,0263% P
0,3002 gr. Substanz	=	0,7326 gr. $CO_2$
		= 66,48% C
		— 0,3048 $H_2O$
		= 11,12% H.

Leider ging der Rest der Verbindung durch einen unglücklichen Zufall verloren, so dass eine N-Bestimmung nicht mehr möglich war.

Der von der ersten Krystallisation abfiltrirte Alkohol wurde bei 40° auf ein ganz kleines Volumen gebracht und mit Kochsalz und Schnee längere Zeit auf einer sehr niedrigen Temperatur erhalten. Er lieferte noch weitere Krystalle. Die von diesen gewonnene Mutterlauge und der Waschkohol auf dieselbe Weise behandelt gab noch Spuren von Nadeln. Die ersteren Krystalle zeigten den obigen Schmelzpunkt; die Menge der Letzteren genügte nicht mehr zu einer Bestimmung desselben.

Der letzte Alkohol hinterliess beim Verdampfen nur unwägbare Mengen festen Rückstandes.

Jedenfalls zeigt aber dieser Versuch sicher, dass im Alkoholextrakt bei 45° nur eine Verbindung vorhanden und dass bei dieser quantitativen Untersuchung dieselbe Substanz erhalten worden ist, die beim Arbeiten im Grossen als einheitliche Verbindung isolirt worden.

#### Alkoholauskochung.

Nach der Extraktion mit Alkohol bei 45° wurde mit solchem ausgekocht. Dieser kochend erhaltene alkoholische Auszug wurde auf dem Wasserbade abgedampft und ergab nach dem Trocknen einen Rückstand in Procenten vom Festen:

3,262%

2,986%

bestehend aus in Aether Löslichem:

62,70%<sub>0</sub>                      56,89%<sub>0</sub>

in Aether Unlöslichem, aber in Alkohol Löslichem:

37,30%<sub>0</sub>                      43,11%<sub>0</sub>

Er war aschenfrei und reagirte neutral. In beiden Portionen wurde jedesmal zusammen der Phosphor bestimmt.

Es enthielt:

die erstere 2,2865%<sub>0</sub> P

die zweite 2,0791%<sub>0</sub> P.

Dieselben sind in der Gesamtübersicht mit ihren Löslichkeits-Eigenschaften in Rechnung gezogen, ohne dass ich mir einen Schluss auf ihre Natur oder ihre Abstammungsart erlaube. Am wahrscheinlichsten ist es wohl, dass man sie als Zersetzungsprodukte irgend welcher anderen Substanz anzusehen hat.

#### Wasserauskochung.

Ebenso musste es mit der nun noch durch Auskochen mit Wasser erhaltenen Materie geschehen.

Dieselbe war aschenfrei und reagirte sauer. Aus beidem ergibt sich wohl mit Sicherheit, dass sie nicht dem Wasserextrakte angehörte.

Sie betrug des Festen:

1,799%<sub>0</sub>                      2,855%<sub>0</sub>

mit 6,1068%<sub>0</sub> P

#### Aetherextrakt.

Jetzt bleibt von dem Löslichen des Gehirnes noch das ganze Aetherextrakt zu besprechen. Dasselbe beträgt vom Festen:

52,469%<sub>0</sub>                      42,348%<sub>0</sub>

mit Phosphor in Procenten des Festen:

0,8574%<sub>0</sub>                      0,7534%<sub>0</sub>

Vergleichen wir diesen Auszug mit dem Alkoholauszuge, so finden wir, dass unendlich viel mehr in Aether als in Alkohol löslich ist und der Phosphor des Gehirnes vorwiegend im Aetherextrakte sich anhäuft. Dann aber geht aus den Zahlen hervor, dass, während der Alkoholextrakt vorwiegend oder einzig und allein der weissen Substanz angehört, der Aetherextrakt beiden gemeinsam ist. Denn wenn auch der



Procentsatz durchaus nicht ein gleicher für beide Gehirnportionen ist, so entfernt der Gehalt in beiden an Aetherextrakt sich doch so weit von dem Verhältniss der Alkohol-extrakte:

$$4.695 \times 52,469 \\ 8,242 = 29,889 \text{ anstatt } 42,347, \text{ die gefunden,}$$

dass wohl eher an eine locale Verschiedenheit der zur Analyse gerade genommenen Gehirnpartien als an eine vorwiegende oder alleinige Anhäufung des in Aether Löslichen in der weissen Substanz zu denken wäre.

Es wäre aber denkbar, dass ein Theil des in Aether Löslichen sich verhielte wie das Protagon; und da zeigt sich nun, dass ein ganz ähnliches Verhältniss besteht in der Vertheilung des freien Cholesterin und der in Aether schwer löslichen Flocken, die schon früher erwähnt wurden. Dieses beträgt in Procenten des Festen:

	5,97%	2,74%
Die Flocken dagegen:		
	4,99%	2,22%
Das Protagon:		
	8,24%	4,69%

Ziehen wir diese Zahlen für freies Cholesterin und Flocken aber ab von den Zahlen für den Gesamtaetherextrakt, so erhalten wir in Procenten des Festen:

$$41,51\% \qquad 37,39\%$$

Das zeigt aber einen fast gleichen Gehalt in grauer und weisser Substanz davon an.

Wurde der Aether von dem Extrakte verjagt, dieser getrocknet und dann wieder in möglichst wenig alkoholfreiem Aether aufgenommen, so blieb der schon erwähnte, flockige weisse Körper ungelöst. Er wurde gesammelt und gewogen (1), wie später 2—7 folgt.

Da nun aus der vorhergegangenen Untersuchung ersichtlich, dass ein grosser Theil des Aetherextraktes aus freiem Cholesterin bestehe, neben gebundenem, so wurde zunächst gesucht, Ersteres möglichst zu gewinnen.

Man erreicht diesen Zweck allerdings auf einem etwas sehr langwierigen Wege recht vollständig, wenn man nach folgender Methode verfährt:

Das von Aether ganz befreite Extrakt wird bei 40—45° in möglichst wenig Alkohol von 95% unter Umrühren aufgenommen, dann einige Zeit bei dieser Temperatur stehen gelassen und endlich langsam auf 0° abgekühlt. Hierbei fällt aus der anfänglich niemals klaren Lösung schon beim Stehen bei 45° ein brauner schmieriger Bodensatz nieder, während sich in der darüber stehenden gelblichen Flüssigkeit beim Erkalten weisse Cholesterin-Krystalle abscheiden. Diese sammelt man auf einem Filter und wäscht so lange mit kaltem Alkohol nach, bis dieser nicht mehr gefärbt abläuft.

Das ausgeschiedene Bodensatz wird bei 45° wiederholt mit Alkohol von 95% behandelt, bis dieser durchaus nicht mehr gefärbt wird und kein Cholesterin mehr abscheidet, also überhaupt Nichts mehr aufnimmt. Ein Theil bleibt als in Alkohol unlöslich zurück. Das Cholesterin sammelt man wieder auf einem Filterchen und wäscht gut mit Alkohol nach.

Dampft man nun die erste und diese zweiten alkoholischen Lösungen wieder bei 45° ganz ein und verfährt mit dem Rückstande gerade so wie mit dem Ersten, so kann man denselben wiederum zerlegen in:

1. Cholesterin-Krystalle, 2. einen in Alkohol ganz unlöslichen und 3. einen darin leicht löslichen Theil.

Werden diese Operationen etwa  $\frac{1}{2}$  Dutzend Mal wiederholt, so nehmen 1 und 2 immer mehr ab, bis endlich deren Ausscheidung ganz aufhört.

Wenn dieses erreicht war, brachte ich die alkoholischen Auszüge wieder auf ein kleines Volumen bei 45° (doch nur so weit, dass bei dieser Temperatur keine Ausscheidung irgend welcher Art erfolgte) und kühlte dann auf 0° ab. Es krystallisirte wieder etwas Cholesterin heraus.

Nachdem dieses wie vorhin gesammelt, verjagte ich den Alkohol wieder ganz bei 45° und löste den Rückstand in solchem von 85%. Diese Lösung gab, wie die vorige



behandelt, noch einmal sehr wenig Cholesterin-Krystalle. Weitere waren nicht zu gewinnen.

Die letzten Cholesterin-Krystalle wurden auf dem Filter mit Alkohol von  $10^{\circ}$  ausgewaschen, bis sie ganz weiss erschienen; der Waschalkohol auf ein ganz kleines Volumen gebracht und auf  $0^{\circ}$  erkältet. Es schieden sich noch Spuren von Cholesterin ab, die auf einem besonderen kleinen Filter gesammelt wurden. Der Waschalkohol von diesem gab keine Krystalle bei der Wiederholung der vorigen Operation, er wurde zu der ersten alkoholischen Lösung hinzugegeben.

Es war also erhalten worden:

- a) Cholesterinkrystalle auf verschiedenen Filtern;
- b) Eine in Alkohol unlösliche Substanz in verschiedenen Bechergläsern;
- c) Eine alkoholische Lösung.

a) Das Cholesterin wurde mit möglichst wenig Aether von den verschiedenen Filtern zum Trocknen und Wägen in ein tarirtes Bechergläschen gebracht (5) und als wasserfreies bestimmt.

Dabei zeigte sich, dass wiederum ein Theil, wie zu Anfang der Bearbeitung des Aetherextraktes, in Aether unlöslich blieb. Diesen löste ich in Alkohol, verdunstete denselben in einem tarirten Tiegel und wog den Rückstand (2).

Um mich zu überzeugen, in wie weit das gefundene Cholesterin rein sei, besonders da es sich beim Trocknen bei  $100^{\circ}$  etwas bräunte, wurde eine gewogene Menge desselben durch Kochen mit weingeistigem KHO zu reinigen versucht. Nach dem Abdunsten des Alkohols erhielt ich durch Aether wieder von:

5,374 gr. — 5,350 gr., also 99,55%.

Das gereinigte Cholesterin bräunte sich bei  $100^{\circ}$  nicht mehr und enthielt keinen P.

Doch ziehe ich es vor, da die Verunreinigungen sich nur so gering erwiesen, die direkt gefundenen Zahlen in Rechnung zu setzen, besonders weil es nicht möglich war,

zu ermitteln, unter welchen Gruppen die fragliche Substanz in Procenten des Aetherextraktes von:

0,07% 0,03%

etwa aufzuführen wäre.

b) Das in Alkohol Unlösliche wurde mit Aether behandelt. Ein Theil löste sich (3), ein Theil nicht (4). Beide wurden getrennt bestimmt.

c) Der Rückstand der alkoholischen Lösung wurde getrocknet und gewogen. Einen aliquoten Theil desselben verseifte ich mit alkoholischem KHO, verjagte den Weingeist, nahm in viel Wasser auf und erschöpfte mit Aether völlig. So wurde das gebundene Cholesterin gewonnen (b). Der Rest nach Abzug dieses ist mit (7) bezeichnet.

Ein anderer aliquoter Theil wurde benutzt zu einer Bestimmung des Phosphors.

Ich erhielt auf diese Weise in Procenten des Aetherextraktes:

0,36	1	0,29	I	} Flocken.
9,16	2	5,07	II	
4,61	3	6,81	Aether löst.	} Unlöslich in Alkohol.
0,05	4	0,05	« löst nicht	
11,37	5	6,47	freies	} Cholesterin.
16,86	6	17,97	gebundenes	
57,59	7	63,34	Rest mit Lecithin.	

Aus diesen Zahlen geht hervor, dass das gebundene Cholesterin und der in Alkohol leicht lösliche Theil die grösste Masse des Aetherextraktes ausmachen und zwar dass sie betragen von der ganzen festen Substanz des Gehirns:

39,079% 34,435%

Wovon gebundenes Cholesterin:

8,819% 7,610%

Gegenüber freiem Cholesterin:

5,972% 2,735%

Danach ist also viel mehr gebundenes als freies Cholesterin im Gehirne und während ersteres in nahezu gleicher Menge in weisser und grauer Substanz enthalten, findet sich das freie nur in geringer Quantität in letzterer, wenn es nicht ganz darin fehlt und gerade wie beim Protogon die



gefundene Menge der in Portion II enthaltenen weissen Substanz zuzuschreiben ist.

Mit diesem Befunde würde auch übereinstimmen, dass die aus dem Aetherextrakt zweimal ausgeschiedenen, nur wenig in Aether löslichen Flocken sich zum überwiegenden Theil in der weissen Substanz finden. Diese Flocken sind sicher, wie anderweite Versuche zeigten, nichts anderes als Protagon, das wegen seiner Löslichkeit in viel Aether in den ersten Extrakt mit aufgenommen war. Wenn auch die P-Bestimmungen höhere Zahlen als für Protagon passend ergaben, so muss man in Betracht ziehen, dass es nicht möglich war durch Umkrystallisiren die geringe Menge zu reinigen. Durch Kochen mit verdünnter  $\text{SH}_2\text{O}_4$  wurde eine CuO leicht reducirende Lösung erhalten und Versuche im Grossen lieferten aus dieser Substanz nach 2 maligem Umkrystallisiren aus Alkohol bei  $45^\circ$  Protagon-Krystallisationen vom richtigen Schmelzpunkt und Phosphorgehalt.

So wie ihre Bestimmung unter den gegebenen Verhältnissen nur möglich war, d. h. durch Eindampfen der alkoholischen Lösung und Trocknen und Wägen des Rückstandes wurden erhalten vom Festen:

0,187%	0,122%
4,808 «	2,103 «

Mit P:

1,8085%
1,2797 «

Von dem in Alkohol Unlöslichen war unlöslich auch wieder in Aether:

5,83%	7,73%
-------	-------

oder vom Festen der Gehirnmasse;

0,0259%	0,0204%
---------	---------

das neben einer Spur Organischem fast ganz aus Unorganischem merkwürdiger Weise bestand mit:

17,8571% P.

Dies deutet also wieder auf Calciumphosphat hin.

Das in Aether Lösliche betrug:

2,421%	2,845%
--------	--------

des Festen. Die fast gleiche Menge desselben spricht dafür,

dass es ein durch gleichmässiges Arbeiten entstandenes gleichmässiges Zersetzungsprodukt des Aetherextraktes sei,

Was nun den in Alkohol leicht löslichen Theil betrifft, so lieferte er bei der Zersetzung Cholesterin:

22,64%<sub>0</sub>                      22,10%<sub>0</sub>

Er enthielt dann im Reste P:

2,4203%<sub>0</sub>                      2,4406%<sub>0</sub>

Diese Zahlen zeigen die Gleichartigkeit des Gemenges an, denn es ist sicher keine einheitliche Verbindung.

Nehmen wir an, der Phosphor wäre als Lecithin vorhanden und das Cholesterin, wie ich vermuthete, als Oelsäure-Aether, also einer Verbindung mit hohem Molekulargewicht, so hätten wir:

Aether . .	4,6163	2,9976
Lecithin .	5,5692	3,7746
Sümma .	10,1855	6,7722
Gegen:	11,9052	7,9210
Differenz .	1,7197	1,1488

Es wären also dann nicht gedeckt:

14,43%<sub>0</sub>                      14,50%<sub>0</sub>

des Ganzen.

Daraus folgt, dass das Cholesterin, was mir wahrscheinlich erscheint, in einer Verbindung mit höherem Molekulargewicht als ich angenommen, darin vorkommt und dass entweder eine Verbindung mit niederem P-Gehalt als Lecithin oder neue P-freie Verbindungen darin zu suchen sind.

Es liegt darin die Aufforderung, gerade diesen Theil der Gehirnmasse, der nach meiner Methode so leicht zu gewinnen ist, besonders in's Auge zu fassen. Bis jetzt wissen wir eigentlich so gut wie gar Nichts über denselben.

Ob freies Lecithin z. B. in demselben, wie man annimmt, in nennenswerthem Masse vorhanden, ist noch gar nicht bewiesen. Dargestellt hat es (ausser den Angaben von Diaconow fehlt jeder Versuch dazu) noch Niemand mit absoluter Sicherheit daraus. Wenn man den Phosphor des Aetherextraktes zu Lecithin berechnete, so fehlte jegliche berechnete Grundlage dazu; ebenso wie es durchaus nicht



zulässig ist, alles Cholesterin als frei im Gehirne vorkommend anzunehmen. Es wurde bisher auf dem Wege der Gewinnung der grösste Theil erst in Freiheit gesetzt und mit dem freien zusammen in Rechnung gezogen.

### Unlöslicher Rest.

Der ganze mit Aether, Alkohol und Wasser erschöpfte Rückstand betrug nach dem Trocknen:

7,7980 gr.	8,5620 gr.
------------	------------

von dem in Arbeit genommenen. Davon liess ein aliquoter Theil und zwar:

1,2657 gr.	1,8665 gr.
------------	------------

nach dem Behandeln mit Pepsin-Glycerin und 0,1% Salzsäure bei 30° bis zur Erschöpfung:

0,3825 gr.	0,3140 gr.
------------	------------

Es waren mithin unlösliches Eiweiss und Bindegewebe entfernt worden:

0,8832 gr.	1,5525 gr.
------------	------------

Das ist aber berechnet auf das ganze Unlösliche:

5,4414 gr.	7,1216 gr.
------------	------------

Die Wirkung der Pepsin-Salzsäure wurde als beendet angesehen, nachdem bei einem Parallelversuche nach wiederholtem Auswaschen, Trocknen und Wägen der mit Pepsin wieder behandelte Rückstand keine Gewichtsabnahme mehr zeigte. Zur Sicherheit wurde die eigentliche quantitative Extraktion dann noch 12 Stunden fortgesetzt.

Da zugleich aber durch die Salzsäure alle Aschenbestandtheile ausgezogen worden, so musste um auf rein organische Substanz zu kommen, noch Folgendes abgezogen werden:

3,7340 gr.	3,0535 gr.
------------	------------

Substanz liessen nach dem Verbrennen Asche;

0,0285 gr.	0,0244 gr.
------------	------------

Dies auf die ganze Menge berechnet und von dem ganzen Verlust abgezogen, giebt reines Organisches:

5,3819 gr.	7,0532 gr.
------------	------------

oder 69,02%	82,38%
-------------	--------

des ganzen Restes, oder des ganzen Festen des Gehirns

16,418%	26,427%
---------	---------

Danach ist die Menge der verdaulichen festen Materie (Eiweiss, Bindegewebe) in der grauen Substanz weit grösser, sowohl der ganzen festen Masse, wie dem durch Alkohol, Aether, Wasser nicht Löslichen gegenüber, als in der weissen Substanz.

Die Menge des nach der Pepsinverdauung bleibenden Rückstandes war bestimmt worden, nachdem er auf einem tarirten Filter gesammelt und getrocknet worden war. Ausgewaschen wurde so lange, bis das Waschwasser in grösserer Quantität verdunstet, keinen Rückstand mehr liess.

Dieser nun gebliebene Rückstand wurde mit etwa 2procent. Natronlauge auf dem Filter unter zeitweisem Verschlusse des Trichterrohres bei Erneuerung der Natronlauge behandelt, um das Nuclein zu extrahiren. Er quillt ziemlich stark auf und ist schwer bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion auszuwaschen. Nachdem dies erreicht, wurde wieder auf demselben Filter getrocknet und gewogen.

Es waren geblieben;

0,3307 gr.	0,2637 gr.
------------	------------

Mithin sind durch die Natronlauge entfernt worden:

0,0518 gr.	0,0503 gr.
------------	------------

Das macht auf die Gesammtmenge des Unlöslichen berechnet:

0,3191 gr.	0,2307 gr.
------------	------------

oder in Procenten derselben:

4,09%	2,69%
-------	-------

und des Gesammt-Festen des Gehirns:

0,9726%	0,8642%
---------	---------

Daraus scheint hervorzugehen, dass die Theile, welche das Nuclein enthalten, gleichmässig in den beiden Substanzen vertheilt, dass sie aber unabhängig von der Natur des übrigen Unlöslichen sind. Einerseits ist der Procentgehalt des Festen der beiden Substanzen daran nahezu gleich, andererseits ist er in dem Unlöslichen der grauen Substanz bedeutend geringer als in dem der weissen, während doch die graue Substanz an Unlöslichem bedeutend mehr enthält.



als die weisse. Der Procentsatz daran gegenüber dem Festen beider Substanzen ist:

23,79%	32,18%
--------	--------

Der Theil des ganzen Unlöslichen, der nun noch blieb, erlitt, wie ein Parallelversuch zeigte, bei alkalischer Pancreasverdauung mit sehr wirksamem Pancreatin-Glycerin keine Gewichtsabnahme. Er musste also bestehen aus dem Neurokeratin Kühne's. Derselbe betrug:

0,3307 gr.	0,2637 gr.
------------	------------

des in Arbeit Genommenen, oder des ganzen Unlöslichen:

2,0376 gr.	1,2096 gr.
------------	------------

d. i. in Procenten desselben:

26,13%	14,13%
--------	--------

oder des Gesamttfesten:

6,2151%	4,5321%
---------	---------

Es ist also davon dem Procentsatze nach, sowohl gegenüber dem Festen des Gehirnes, wie es scheint, als auch dem Unlöslichen gegenüber mehr in der weissen als grauen Substanz enthalten.

Der Phosphor konnte in dem eben besprochenen Gehirnrückstände theils in der Asche als Erdphosphat, theils im Nuclein enthalten sein. Zur Bestimmung beider Mengen wurde nach der von Geoghegan<sup>1)</sup> befolgten Methode verfahren. Es wurden:

2,7260 gr.	2,4685 gr.
------------	------------

ein fein zerriebener Rückstand mit  $\text{BaCO}_3$  gemengt und verbrannt. Das Baryum mit  $\text{SH}_2\text{O}_4$  entfernt. Mit  $\text{NH}_4\text{OH}$  die phosphorsauren Erden gefällt. Der Phosphor im Niederschlage stammte aus der Asche, der im Filtrate aus dem Nuclein.

Es wurden gefunden in der Asche: P =

0,0039 gr.	0,0039 gr.
------------	------------

Im Nuclein:

0,0030 gr.	0,0016 gr.
------------	------------

Auf den gesammten Rückstand berechnet in der Asche

0,0113 gr.	0,0191 gr.
------------	------------

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 330.

In dem Nuclein:

0,0087 gr.

0,0054 gr.

Danach entspräche der Gehalt an Phosphor in der Asche wieder fast dem des neutralen phosphorsauren Calcium:

19,699%

20,094%

Er ist bei der grauen Substanz sogar etwas höher gefunden.

Im Nuclein sind laut der versuchten Gesamtbestimmung desselben und des Nucleinphosphors gefunden: P =

2,7335%

2,3139%

Kossel<sup>1)</sup> fand im feuchten Schaafsgehirn: P =

0,0982%

vom Nuclein stammend.

Ich finde im feuchten Pferdegehirn denselben =

0,0081%

0,0046%

also viel weniger. Kossel findet das Verhältniss vom Nuclein-P zu Gesamt-P:

1 : 3,58

Ich habe gefunden:

1 : 48,0

1 : 64,0

Diese Differenzen sind so bedeutend, dass man sie nicht auf den Unterschied zwischen Schaaf- und Pferdegehirn schieben kann.

Mir will scheinen, als wenn die von Kossel gefundenen Zahlen für den Gesamt-Phosphorgehalt zu niedrig und die für den Nucleinphosphor zu hoch sind.

Nach von Bibra<sup>2)</sup> beläuft sich der Phosphorgehalt des Gehirnfettes für 100 Theile frisches Schaafsgehirn berechnet auf:

0,3306%

Kossel hat fast ebenso viel als Gesamt-Phosphor gefunden, nämlich:

0,3532%

berechnet auf feuchtes Gehirn. Darin sind mit eingeschlossen der Phosphor der Salze, des Protogons und des Nucleins.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 7.

<sup>2)</sup> Berechnet nach Zahlen aus: «Vergleichende Untersuchung über die Gehirne des Menschen und der Wirbelthiere» von Bibra. Mannheim 1854.



Es müsste ohne Nuclein nur Fette + Protagon + Asche geben danach: P =

0,2548%

also bedeutend weniger als die Fette nach v. Bibra allein.

Sollte nicht die Methode Kossel's gerade bei dem Gehirne noch anderweiten Phosphor als nur den des Nuclein im Rückstande zurücklassen? Nach dem Extrahiren mit verdünnter Salzsäure lässt er so lange mit siedendem Alkohol und zuletzt mit Aether extrahiren, bis eine Probe der letzteren Extrakte mit Soda und Salpeter verascht nur noch geringe Spuren von Phosphorsäure anzeigte. Es setzt sich unter Einwirkung der Wärme und des Alkohols, wie schon Bourgoin<sup>1)</sup> zeigte, aus unreinem Cerebrin (d. h. Protagon) als Zersetzungsprodukt ein P-haltiger schmieriger Körper ab. Dieser ist, wie jeder der diesen Körper unter Händen hatte, gefunden haben wird, nur und zwar sehr schwer in ganz siedendem Alkohol löslich und ist zum Theil nahezu unlöslich in Aether; daher lässt er sich kaum oder nur sehr schwer durch Auswaschen mit siedendem Alkohol oder mit Aether einem Filter, dem er anhaftet, entziehen. Während noch beträchtliche Mengen auf dem Filter zurückblieben, wird der abgelaufene Alkohol oder Aether zur Zeit nur Spuren von Phosphorsäure liefern. Mir hat es niemals gelingen wollen (wohl aus diesem Grunde) auch nach tagelangem Auswaschen mit siedendem Alkohol oder Aether ein ganz phosphorfreies Filtrat zu erhalten.

Nach Jacksch<sup>2)</sup> sind im Gehirn eines 16jährigen Knaben etwa 3 gr. Nuclein enthalten; das wäre, wenn wir von Bibra's Gewichtsbestimmungen für das Gehirn des Menschen zwischen 15 und 20 Jahren zu Grunde legen (im Durchschnitt = 1432,7 gr.) etwa 0,22%. Ich fand durchschnittlich beider Bestimmungen 0,25% im Pferdehirn.

Derselbe Autor fand P im Nuclein des Gehirnes des Menschen:

1,71% bis 2,08%

1) Jahresbericht für Thierchemie 1874, S. 69.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 13, S. 469.

Ich fand:

2,7335%

2,3139%

also höhere Zahlen.

Nach den Untersuchungen von Geoghegan <sup>1)</sup> ist gefunden worden laut den Zahlen für Nuclein, berechnet nach der Miescher'schen Formel, Nucleinphosphor 0,0137 %, also weit weniger als Kossel fand, aber mehr als ich gefunden habe.

Wie diese Differenzen zu erklären, ist vorläufig nicht zu sagen. Sie sind aber immerhin so gross, dass sie kaum durch die Eigenthümlichkeit des verschiedenen verarbeiteten Materials erklärt werden; sie kann nur verursacht sein durch eine verschiedene Behandlung desselben. Die Eigenschaften und Zusammensetzung der Nucleine sind vorläufig zu wenig bekannt; jedenfalls aber liegt in den verschiedenen Befunden die Anregung gerade auch am Gehirne der Sache weiter nachzuforschen.

Fassen wir die im Vorigen besprochenen Zahlen in dem Procentsatze des Festen des Gehirns zusammen, so ergibt sich:

(Tabelle folgt auf nächster Seite.)

Daraus geht hervor:

I. Die im Wasser löslichen Bestandtheile finden sich da mehr, wo mehr Wasser vorhanden, also in der grauen Substanz. Das sind die löslichen Salze, das lösliche Albumin und extractive organische Stoffe.

II. Asche und Organisches von weisser und grauer Substanz sind nahezu gleich. Nur bringt das Mehr der in Wasser löslichen Aschenbestandtheile ein geringes Uebergewicht in Letzterer an Anorganischem hervor.

III. Das Nuclein, das Aetherextract mit Ausnahme des freien Cholesterin (also das gebundene Cholesterin, das Lecithin und alles Unbestimmbare desselben) sind ebenfalls fast gleich in beiden Substanzen.

IV. Dagegen herrschen vor das Neurokeratin, das freie Cholesterin, und das Protagon mit Allem, was wohl noch

<sup>1)</sup> L. cit.



—	1,7167	Anorganisches.	2,4449	—	—
—	—	Löslich	—	2,1889	—
—	—	} in Wasser.	—	0,2560	—
—	—	Unlöslich	—	—	—
—	98,2833	Organisches.	97,5551	—	—
—	—	Neurokeratin.	—	4,5321	—
—	6,2150	Nuclein.	—	0,8642	—
—	0,9726	Albumin.	—	30,8910	—
—	19,3327	Löslich in Wasser.	—	—	4,4651
2,9143	—	Unlöslich und Bindegewebe.	—	—	26,4267
16,4184	—	Extrakt in aqu.	—	11,2579	—
—	7,7943	Cholesterin.	—	16,3488	—
—	14,8204	Frei.	—	—	2,7388
5,9715	—	Gebunden.	—	—	7,6100
8,8419	—	Protagon.	—	4,6955	—
—	8,2420	Flocken.	—	2,2684	—
—	4,9954	I.	—	—	—
—	—	II.	—	—	0,1217
—	—	Unbestimmt.	—	—	2,1467
—	5,6810	Aether löst; Alkohol nicht.	—	5,8711	—
—	—	Aether nicht; Alkohol löst.	—	—	4,5838
—	—	Rest.	—	—	1,2873
—	30,2299	Lecithin aus P } berechnet.	—	26,8253	—
—	—	P-freies	—	—	—
12,8815	—		—	—	11,5143
17,3484	—		—	—	15,3110

zu ihm gehört in der weissen Substanz; wenn nicht alle zusammen dieser einzig und allein angehören.

V. Während das unlösliche Albumin und Bindegewebe vorwiegend der grauen Substanz angehört, also demjenigen Theile, wo die überwiegende Menge der wässerigen Flüssigkeit circulirt.

Der Phosphorgehalt ordnet sich dem Vorigen nach folgendermassen. In 100 Theilen wässriger Substanz sind in:

Asche . . .	0,0532	0,0554
Protagon . .	0,0258	0,0111
Aetherextrakt.	0,3115	0,2234
Nuclein . . .	0,0081	0,0046

Das sind in Procent des Festen in:

Asche . . .	0,1746 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	0,2408 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Protagon . .	0,0837 «	0,0483 «
Aetherextrakt.	1,0225 «	0,9712 «
Nuclein . . .	0,0266 «	0,0199 «

Im Gesamtgehirn würden danach sein in:

Nuclein . . .	0,0064 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Protagon . . .	0,0184 «
Asche . . . .	0,0543 «
Aetherextrakt .	0,2678 «

Danach betrüge etwa die Gesamtmenge des Phosphors im Gehirne vom Pferde:

0,3470<sup>0</sup>/<sub>0</sub>

oder im Trockenrückstande:

1,2979<sup>0</sup>/<sub>0</sub>

Von dieser Menge würden auf den Aetherextrakt, also das am wenigsten Untersuchte, die überwiegende Menge, nämlich:

77<sup>0</sup>/<sub>0</sub> |

auf die Asche etwa:

15—16<sup>0</sup>/<sub>0</sub>

kommen. Dem Protagon gehören nur an:

5—6<sup>0</sup>/<sub>0</sub>

und die geringste Menge entfällt auf das Nuclein etwa:

1½—2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.