

Ueber die Identität des Gehirnzuckers mit Galactose.

Von

Dr. Hans Thierfelder.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut in Strassburg.)
(Der Redaction zugegangen am 30. August 1889.)

Baeyer und Liebreich¹⁾ waren die Ersten, welche erkannten, dass im Gehirn ein Kohlehydratcomplex enthalten ist; bei der Spaltung des Protagon erhielten sie einen Zucker, der ihrer Angabe nach alle Eigenschaften der Dextrose hatte. Bald darauf theilte Otto²⁾ mit, dass man beim zwölfstündigen Kochen von Cerebrin mit Salzsäure eine Flüssigkeit erhalte, welche, vom Ungelösten abfiltrirt, «beim Verdunsten über Schwefelsäure einen braunen, Spuren von Krystallisation zeigenden Syrup hinterlässt, welcher nicht ganz farblos zu erhalten war, alkalische Kupferlösung reducirt, durch basisch essigsaures Blei gefällt wurde und 41,7% C und 7,32% H enthielt». Geoghegan³⁾ fand bei seinen Arbeiten über die Constitution des Cerebrin ebenfalls diesen reducirenden Körper, ohne ihn indessen näher zu untersuchen; er hielt ihn für eine Säure, die durch Kohlensäure unzersetzbar Salze bildet und vielleicht linksdrehend ist. Erst Thudichum⁴⁾ gelang es, das Kohlehydrat in krystallinischer Form zu erhalten. Die Methode der Dar-

¹⁾ Virchow's Archiv, Bd. 39, S. 183, 1867.

²⁾ Virchow's Archiv, Bd. 41, S. 272, 1867.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 3, S. 337, 1879.

⁴⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 25, S. 23, 1882, und Grundzüge der anatom. u. klin. Chemie, Berlin 1886, S. 55, sowie Annals of Chemik. Medic., Bd. 2, 1881.

stellung, deren er sich bediente, ist folgende: Die von Thudichum so genannten Cerebroside Phrenosin und Kerasin, phosphorfreie Körper, welche durch Behandlung von Protagon mit alkoholischer Lösung von Bleizucker und Ammoniak in der Wärme von den phosphorhaltigen Verbindungen isolirt und durch fractionirte Krystallisation aus Alkohol von einander getrennt worden waren, wurden mit dem zehnfachen Gewicht 2% Schwefelsäure in bleiernen Röhren 24 Stunden auf 130° erhitzt. Nach dieser Zeit wurde die Flüssigkeit herausgelassen und durch neue 2% Schwefelsäure ersetzt. Die wieder verschlossenen Röhren kamen auf's Neue in den Ofen und blieben abermals 24 Stunden einer Temperatur von 130° ausgesetzt und so fort, bis die Spaltung vollendet war, d. h. bis die Lösung Kupferoxyd nicht mehr reducirte. Hierzu war mindestens ein 14tägiges, zuweilen sogar ein 24tägiges Erhitzen nöthig. Die einzelnen auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeiten wurden mit kohlensaurem Baryum neutralisirt, vom ungelösten Baryumcarbonat abfiltrirt und eingengt; beim Stehen schieden sich harte Krystalle ab, welche durch Behandlung mit Thierkohle gereinigt werden konnten. Sie schmeckten süß und gaben bei der Analyse Zahlen, die für die Formel $C_6H_{12}O_6$ gut stimmten. Die wässrige Lösung wurde durch Bleiessig, sowie durch Bleizucker und Ammoniak gefällt, reducirte Fehling'sche Flüssigkeit u. z. etwas schwächer als gleichconcentrirte Glykoselösung (5 Theile Traubenzucker schienen 6 Theilen des Gehirnzuckers zu entsprechen) und drehte die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts. Das Drehungsvermögen frisch bereiteter Lösungen nahm beim Stehen ab, wurde aber nach 24 Stunden beständig. Die spezifische Drehung betrug +70,4. Thudichum nannte diesen Zucker Cerebrose.

Die gemachten Angaben genügen aber offenbar nicht, die Natur dieses Kohlehydrats festzustellen. Eine genauere Untersuchung desselben erschien nöthig, um zu entscheiden, ob in der That ein neuer Zucker, der einen eigenen Namen verdient, vorliegt, oder ob die Cerebrose nicht etwa identisch ist mit einer der bereits bekannten Glykosen.

Das Ausgangsmaterial, welches ich zur Darstellung benutzte, ist derjenige phosphorfreie Körper, den man durch Kochen von Protagon mit Barytwasser und Umkrystallisiren des abfiltrirten Rückstandes aus Alkohol erhält und der von Müller, Diakonow und Geoghegan Cerebrin genannt worden ist. Thudichum¹⁾ gibt an, dass durch Behandeln des Gehirns mit Barythydrat nicht nur die phosphorhaltigen Substanzen zersetzt, sondern auch die phosphorfreie Materie zum Theil verändert würden; auch Pareus²⁾ behauptet, dass die phosphorfreien Körper durch fortgesetztes Kochen mit Aetzbaryt eine vollständige Zersetzung erfahren. Wie aber auch diese Sache, zu deren Beurtheilung mir bis jetzt eigene Erfahrungen fehlen, sich verhalten mag, jedenfalls ist das mit Hülfe der Barytmethode dargestellte Cerebrin sehr gut zur Gewinnung des Kohlehydrats geeignet. Ich verfuhr in folgender Weise:

3 gr. Cerebrin wurden mit 30 cbcm. 2% Schwefelsäure zu einem dünnen Brei zerrieben und in 30 cm. langen und 1,5 cm. weiten zugeschmolzenen Glasröhren im Oelbad 5 Stunden auf 115—125° erhitzt. Nach dem Erkalten fand sich in der Röhre eine leicht bräunlich gefärbte, von kohligen Bestandtheilen durchsetzte, zusammenhängende feste Masse, umgeben von einer hellgelben klaren Flüssigkeit. Beim Oeffnen zeigte sich kein Druck oder höchstens ein ganz geringer. Die Flüssigkeit wurde filtrirt, der Rückstand mit Wasser zerrieben, ebenfalls auf das Filter gebracht, mit Wasser ausgewaschen und dann wieder mit 30 cbcm. 2% Schwefelsäure im Glasrohr in derselben Weise erhitzt. Der Inhalt der Röhre gewährte nach dem Erkalten denselben Anblick, wie nach dem ersten Erhitzen. Die weitere Behandlung geschah ebenso, wie vorher. Die beiden Filtrate prüfte ich mit Fehling'scher Lösung auf ihr Reductionsvermögen; es ergab sich, dass das erste Filtrat 0,4 gr. Kohlehydrat (als Traubenzucker gerechnet), das

¹⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 25, S. 35, 1882, u. an andern Stellen.

²⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 24, S. 329, 1881. Mit dieser Angabe ist schwer die andere (auf derselben Seite) in Einklang zu bringen, dass mehrstündiges Kochen am Rückflusskühler mit alkoholischer Kalilauge nur geringe Veränderungen hervorruft.

zweite nur 0,05 gr. enthielt. Die Spaltung konnte also als beendigt angesehen werden. Ein zweiter Versuch lehrte, dass man auch mit 1% Schwefelsäure auskommen kann: 3-gr. Cerebrin mit 30 cbcm. 1% Schwefelsäure derselben Behandlung unterworfen, lieferten das erste Mal 0,36 gr., das zweite Mal 0,09 gr. Kohlehydrat, also in Summa ebenso viel als im ersten Versuch erhalten wurde. Als eine 0,5% Schwefelsäure zur Anwendung kam, war die Ausbeute an reducirender Substanz eine bedeutend geringere. In der beschriebenen Weise behandelte ich nun eine grössere Menge Cerebrin, immer in Portionen zu 3 gr. Die einzelnen Filtrate wurden vereinigt und mit Aetzbarytlösung neutralisirt; die filtrirte Flüssigkeit enthielt stets eine ansehnliche Menge von Baryum in Lösung, ein Umstand, der anfänglich den Gedanken nahe legte, es mit einer Kohlehydratsäure zu thun zu haben. Durch vorsichtigen Zusatz von Schwefelsäure wurde jetzt das Baryum ausgefällt, die Flüssigkeit filtrirt und zunächst in flacher Schale über kleiner Flamme, dann unter der Luftpumpe bis zum Syrup eingeeengt. Derselbe zeigte in der Regel keine Neigung zur Krystallisation, diese begann aber sofort auf Zusatz einer geringen Menge Alkohol und war nach 12 bis 24 Stunden beendet. Der ganze Syrup erschien in eine feste Krystallmasse verwandelt, die nur sehr wenig Mutterlauge einschloss. Die Krystalle waren sternförmig gruppirt und bildeten einzelne Rosetten. Sie wurden abgepresst, mehrmals aus Wasser umkrystallisirt und mit Hülfe von Thierkohle farblos erhalten. Die Analyse des unter der Luftpumpe getrockneten Präparates ergab folgende Werthe:

0,1766 gr. lieferten 0,26126 gr. CO_2 und 0,10715 gr. H_2O .

	Gefunden:	Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$:
C	40,35	40,0
H	6,74	6,67

Die Zusammensetzung ist also die einer Glykose, wie auch Thudichum gefunden hat. Die Krystalle waren sehr hart, schmeckten süss und lösten sich leicht in Wasser. Die wässrige Lösung reducirte Fehling'sche Flüssigkeit, drehte

die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts und gährte nicht mit Hefe. Auch 10% Lösungen mit Hefe zusammengebracht lieferten selbst nach 36 Stunden keine Spur von Gas, während gleichconcentrirte Traubenzuckerlösungen, welche mit derselben Hefe angesetzt wurden, schon nach wenigen Minuten auf das Lebhafteste zu gähren anfangen.

Um über die Natur des Zuckers Aufschluss zu erhalten, behandelte ich ihn zunächst mit Salpetersäure in der Wärme¹⁾.

Oxydation mit Salpetersäure. 1,1 gr. unreiner Gehirnzucker wurden mit 13 cem. Salpetersäure vom spec. Gewicht 1,15 auf dem Wasserbade eingedampft, bis die Flüssigkeit dicklich wurde und sich eine weisse krystallinische Masse abgeschieden hatte. Der Rückstand mit 2 cem. Wasser versetzt blieb einige Tage stehen, wurde dann abfiltrirt, mit 5 cem. Wasser gewaschen und über Schwefelsäure gefrocknet; er stellte ein schneeweisses Krystallpulver dar, dessen Menge 0,75 gr. betrug, gleich 68% des angewandten Zuckers. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0,1958 gr. Substanz lieferten 0,2466 gr. CO₂ und 0,0900 gr. H₂O.

	Gefunden:	Berechnet für C ₆ H ₁₀ O ₅ :
C	34,35	34,29,
H	5,11	4,76.

Die Säure war in kaltem Wasser fast unlöslich, in heissem Wasser löste sie sich auf. Der Schmelzpunkt lag zwischen 206° und 213°; sehr langsam erhitzt begann die Substanz bei 206° zu schmelzen unter Zersetzung und Blasenbildung, bei 213° war sie vollständig geschmolzen.

Die Ergebnisse der Analyse, die Unlöslichkeit in kaltem Wasser, sowie der Schmelzpunkt [der Schmelzpunkt der Schleimsäure ist zu 213° gefunden²⁾] beweisen, dass man es

¹⁾ Es kamen die Verhältnisse zur Anwendung, die von Kent und Tollens zur Darstellung von Schleimsäure aus Galactose empfohlen worden sind. Liebig's Ann., Bd. 227, S. 227, 1885.

²⁾ Vergl. auch die Angaben von Kent und Tollens. Liebig's Annal., Bd. 227, S. 230, 1885.

mit Schleimsäure zu thun hat. Damit ist aber zugleich sehr wahrscheinlich gemacht, dass der Gehirnzucker Galactose ist, denn bis jetzt kennt man kein anderes Kohlehydrat von der Formel $C_6H_{12}O_6$, welches mit Salpetersäure oxydirt Schleimsäure bildet. Nach Kent und Tollens¹⁾ liefert Galactose 77,4% Schleimsäure; ich habe nur 68% erhalten. Diese Differenz erklärt sich ohne Weiteres daraus, dass das von mir benutzte Präparat nicht völlig rein war.

Die weiterhin angestellten Versuche sind geeignet, die Vermuthung auf Galactose zu bestätigen.

Schmelzpunkt. Der Schmelzpunkt der Galactose, der früher von Fudakowsky²⁾ zu 142°—144° angegeben wurde, liegt nach den neuern Bestimmungen von von Lippmann³⁾ bei 168°. Der Gehirnzucker begann bei 165° zu schmelzen, bei 168° war er vollständig geschmolzen.

Reductionsvermögen. Untersuchungen von Soxhlet⁴⁾ haben ergeben, dass 10 ccm. Fehling'scher Flüssigkeit, die mit dem 4fachen Volumen Wasser verdünnt waren, von 0,0533 gr. Galactose reducirt werden; vom Gehirnzucker waren zur Reduction derselben Menge gleichverdünnter Fehling'scher Lösung 0,05372 gr. erforderlich. Berechnet man mit Hülfe dieses Werthes die Quantität des bei dem oben beschriebenen Spaltungsversuch erhaltenen Gehirnzuckers, so ergibt sich, dass aus 3 gr. Cerebrin 0,4833 gr. Zucker erhalten wurden oder 16,11%. Die wirklich gebildete Menge ist aber offenbar grösser; ein Theil des entstandenen Zuckers hat sich unter dem Einfluss der Säure in Huminsubstanzen umgewandelt, wie die Anwesenheit kohligter Partikelchen in dem Glasrohr beweist.

¹⁾ Loc. cit., S. 227.

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 11, S. 1070, 1878.

³⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 18, S. 3335, 1885. Die frühere auch in das Lehrbuch von Beilstein übergegangene Angabe von v. Lippmann, dass der Schmelzpunkt bei 148° liege (Ber., Bd. 17, S. 2239, 1884), ist von ihm selbst zurückgenommen.

⁴⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 21, S. 271, 1880.

Specifische Drehung. 1,4486 gr. Substanz wurden in Wasser zu 20,8265 gr. gelöst. Das specifische Gewicht betrug 1,02759. Die Lösung zeigte Birotation, d. h. frisch bereitet lenkte sie die Polarisationssebene stärker nach rechts ab, als nach dem Stehen. Das Drehungsvermögen war nach 7 Stunden constant. Die Bestimmung wurde im 200 mm. langen Rohr des grossen Landolt'schen Halbschattenapparats bei Natriumlicht vorgenommen. Temperatur 24° . Die Ablenkung betrug $11,15^{\circ}$. Daraus berechnet sich α_D zu 77,995. Die specifische Drehung einer gleichconcentrirten Lösung reiner Galactose bei 24° ergibt sich nach der von Meissl¹⁾ aufgestellten Formel zu $\alpha_D = 79,413$.

Gährung. Die Frage, ob reine Galactose gährungsfähig ist, wurde von den verschiedenen Untersuchern theils bejaht, theils verneint. Nach den Versuchen von Tollens und Stone²⁾ vergäht Galactose nur dann ziemlich vollständig, aber immer bedeutend langsamer als Dextrose, wenn Hefenährlösung (Hefedekokt) zugefügt wurde; ohne Nährlösung gährt sie ebenso wie Dextrose unvollständig.

Ob der Gehirnzucker bei Anwesenheit von Nährlösung durch Hefe in Gährung gebracht werden kann, habe ich nicht untersucht. Hefe allein, welche Traubenzuckerlösung in wenigen Minuten in stürmische Gährung versetzt, ist jedenfalls, wie oben bereits erwähnt, nicht im Stande, in Gehirnzuckerlösung von demselben $\%$ -Gehalt auch nur die geringste Gasentwicklung hervorzurufen.

Phenylhydrazinverbindung. Nach der von E. Fischer³⁾ für Darstellung des Phenylgalactosazons gegebenen Vorschrift wurde 1 gr. Gehirnzucker mit 4 gr. salzsaurem Phenylhydrazin, 6 gr. essigsaurem Natrium und der entsprechenden Menge Wasser auf dem Wasserbad erwärmt. Nach einiger Zeit begann die Abscheidung mikroskopisch feiner gelber Nadeln; nach einer Stunde wurde der gebildete Nieder-

¹⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 22, S. 100, 1880.

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 21, S. 1572, 1888.

³⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 826, 1887.

schlag abfiltrirt, abgepresst und in heissem Alkohol gelöst. Die aus der concentrirten alkoholischen Lösung wieder mit Wasser ausgefällte Verbindung löste ich in heissem Aceton und brachte sie durch Zusatz von Aether abermals zur Abscheidung. Der auf diese Weise erhaltene hellgelbe Körper schmolz langsam erhitzt bei 175° , schnell erhitzt bei 185° , nachdem bei etwas über 180° Bräunung eingetreten war. Nochmals durch Auflösen in Aceton gereinigt, schmolz er rasch erhitzt erst bei 192° . E. Fischer¹⁾ gibt den Schmelzpunkt von Phenylgalactosazon beim raschen Erhitzen zu 193° bis 194° an, Tollens²⁾ fand ihn bei 184° bis 186° .

Aus dem Mitgetheilten ergibt sich mit Sicherheit die Identität des Gehirnzuckers mit Galactose; somit ist der Name Cerebrose überflüssig geworden.

Galactose wurde bekanntlich zuerst aus dem Milchsucker durch Einwirkung verdünnter Säuren dargestellt; lange Zeit glaubte man, dass die Milchdrüse ihre einzige Bildungsstätte sei; in den letzten Jahren gelang es, die Galactose auch aus verschiedenen Pflanzen resp. Pflanzenstoffen durch Behandlung mit Säuren zu gewinnen. Durch die vorstehende Untersuchung ist nun in dem Kohlehydratcomplex des Gehirns auch für den thierischen Organismus ein zweiter Repräsentant der Kohlehydratgruppe nachgewiesen, die beim Erhitzen mit Säuren Galactose und bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure liefert.

Ich bin mit der weiteren Untersuchung des Cerebrin beschäftigt, die hoffentlich zur Isolirung der Muttersubstanz der Gehirngalactose führen wird.

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 1004, 1887.