

Ueber einige Bestandtheile des Nervenmarks und ihre Verbreitung in den Geweben des Thierkörpers.

Von

A. Kossel und **Fr. Freytag.**
(Mitgetheilt von A. Kossel.)

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 30. September 1892.)

Die physiologische Bedeutung des Nervenmarks und sein Verhältniss zur Function des Axencylinders ist noch völlig in Dunkel gehüllt. Auf diesem Gebiete, wo noch jede physiologische Vorstellung fehlt, muss den durch chemische oder anatomische Beschreibung gewonnenen Kenntnissen eine um so grössere Aufmerksamkeit zugewandt werden, denn diese bilden die natürliche Grundlage für den späteren Aufbau physiologischer Anschauungen und für die Beurtheilung pathologischer Verhältnisse.

Ebenso wie die Resultate der chemischen Beschreibung für uns ohne Werth bleiben, wenn sie nicht mit den anatomischen Ergebnissen in Beziehung gesetzt werden, so ist auch die Anatomie auf dem Gebiete der feineren Structur der Nervenfasern ohne die Chemie ganz hilflos. Die Kenntniss der chemischen Bestandtheile allein kann zu einer rationellen histologischen Methodik führen und die Kenntniss der Form gewinnt nur dadurch Werth, dass man auch die Stoffe kennt, welche in dieser Form enthalten sind.

Seitdem man weiss, dass die eigenthümlichsten Bestandtheile des Nervenmarks, die Protogone und Cerebrine, auch in anderen, nicht nervösen, Gewebstheilen enthalten sind, hat

das Studium dieser Substanzen ein neues Interesse gewonnen. Wir finden in den ursprünglichen Zellen gewisse Stoffe vorgebildet, welche bei der Entwicklung der embryonalen Gewebs-elemente zu markhaltigen Nervenfasern an relativer Masse zunehmen und zugleich gewisse Veränderungen in ihrem chemischen Bau erfahren. Es erscheint also bei dieser Betrachtung die Entwicklung des Nervenmarks aus der ursprünglichen Zelle nicht allein als ein morphologisches, sondern auch als ein chemisches Problem. Die chemische Untersuchung des Nervenmarks wird vorerst kaum im Stande sein, eine der alten Fragen über die Function der Nerven zu lösen, wohl aber wird sie neue Fragen und neue Gesichtspunkte bringen.

Unsere Untersuchungen haben sich zunächst dem Protagon und seinen Spaltungsproducten, den «Cerebrasiden», zugewendet.

1. Ueber das Protagon.

Die umfangreiche Literatur über die phosphorhaltigen Bestandtheile der Nerven gibt ein Zeugnis dafür, dass die Chemiker seit 80 Jahren immer von Neuem bemüht gewesen sind, über das Wesen dieser Substanzen Klarheit zu erhalten, dass aber unsere Kenntnisse nur sehr langsame Fortschritte gemacht haben. Allmählig hat sich durch Frémy's¹⁾ und besonders durch Liebreich's²⁾ Untersuchungen ergeben, dass unter den phosphorhaltigen organischen Bestandtheilen der Nervensubstanz einer vorhanden ist, welcher sich durch seine Krystallisationsfähigkeit vor den übrigen auszeichnet. Liebreich nannte diesen Körper Protagon. Eine Zusammenstellung der neueren Literatur über diese Substanz ist zu wiederholten Malen, zuletzt in den Abhandlungen von Gamgee und Blankenhorn³⁾ und von Baumstark⁴⁾ veröffentlicht. Wir verzichten daher auf eine nochmalige Wieder-

¹⁾ Annales de chimie et de physique, Troisième Série, T. II, 1841, S. 463.

²⁾ Annalen der Chemie und Pharmacie, 134, N. F., Bd. 58, 1865, S. 29.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 260.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 145.

gabe derselben. Bezüglich der älteren Untersuchungen ist zu bemerken, dass bereits Vauquelin¹⁾ (1812) und Couerbe²⁾ (1834) dieselbe Substanz in unreinem Zustande vor sich hatten. Vauquelin nannte sie «*matière grasse blanche*», Couerbe bezeichnete sie als «*cérébrote*». Die Untersuchungen von Vauquelin, «*étant faits à une époque où l'esprit ne poussait pas la curiosité jusqu'à la connaissance du nombre et du rapport des éléments qui composent les principes organiques*»³⁾, haben für uns kaum noch Interesse. Couerbe fand in dem Cérébrote 67,8% C, 11,1% H, 3,4% N, 2,1% S, 2,3% P. Frémy (1841, l. c.) führt das Protagon als «*acide cérébrique*» an, seine Analysen sind weiter unten angeführt.

Dass das Protagon der Markscheide und nicht dem Axencylinder oder den Nervenzellen angehört, geht aus den Untersuchungen von Frémy⁴⁾, Petrowsky⁵⁾ und Raske⁶⁾ im Vergleich mit den folgenden Thatsachen hervor. Frémy gibt an, er habe die «*substances grasses*» nur in der weissen, nicht in der grauen Substanz des Gehirns gefunden. Petrowsky und später Raske bewiesen, dass das Cerebrin aus der marklosen Nervenmasse entweder gar nicht oder doch nur in verschwindend geringer Menge dargestellt werden kann. Die folgenden Untersuchungen charakterisiren aber das Cerebrin als Spaltungsproduct des Protagons, folglich kann auch das Protagon nur im Nervenmark vorhanden sein.

Wir beabsichtigten nicht, das von den verschiedenen Forschern genauer bearbeitete Protagon einer erneuten analytischen Untersuchung zu unterwerfen, sondern wir bezweckten nur, uns das Ausgangsmaterial für die folgenden Versuche zu beschaffen. Bei dieser Gelegenheit machten wir einige Beobachtungen über das Protagon, die wir nicht unerwähnt lassen wollen.

¹⁾ Annales de chimie et de physique, T. 81, S. 37, 1812.

²⁾ Annales de chimie et de physique, T. 56, 1834, S. 160.

³⁾ Couerbe, l. c.

⁴⁾ L. c., S. 486.

⁵⁾ Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. VII, S. 367 (1873).

⁶⁾ Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 336 (1886).

Nach den oben erwähnten Untersuchungen von Gamgee und Blankenhorn und von Baumstark müsste man annehmen, dass das Protagon ein Körper sei, der sich ziemlich leicht im Zustand völliger Reinheit darstellen lässt, denn die Analysen führten zu den übereinstimmenden Zahlen, welche weiter unten angegeben sind. Wir bezweifeln nicht, dass es bei genauer Innehaltung der von diesen Autoren gegebenen Vorschriften gelingen mag, einheitliche Präparate zu erzielen.

Auch wir erhielten unter gewissen Bedingungen Substanzen, deren Zusammensetzung den Angaben dieser Forscher entsprach. Daneben wurden aber von uns andere Präparate gewonnen, die trotz grosser Sorgfalt bei der Darstellung zu abweichenden analytischen Ergebnissen führten. Damit stimmt auch die Thatsache überein, dass Liebreich's mit der grössten Vorsicht und Sachkenntniss dargestellte Präparate unter sich erhebliche Abweichungen im Kohlenstoff- (66,2–67,4%) und Wasserstoff-Gehalt (11,1–12,6%) zeigen. Wir schliessen aus diesen Thatsachen, dass es neben dem Protagon, welches von Gamgee und Blankenhorn analysirt ist, noch eine Gruppe von Stoffen gibt, welche ebenfalls als Protagone bezeichnet werden müssen, da sie in ihrer Zusammensetzung und in ihren Eigenschaften demselben sehr ähnlich sind.

Wir werden in dieser Annahme durch mehrere Gründe bestärkt. Aus dem Protagon entstehen zwei, vielleicht auch drei homologe resp. ähnliche Substanzen, die wir nach Thudichum's¹⁾ Vorgang unter dem Namen der Cerebroside zusammenfassen wollen, diese sind: das Cerebrin, das Kerasin oder Homocerebrin²⁾ und das Enkephalin. Wir dürfen hieraus mit einiger Wahrscheinlichkeit folgern, dass die complicirte Muttersubstanz, aus welcher diese Homologen oder ähnliche Verbindungen hervorgehen, nicht eine einzige Verbindung sei, sondern dass es mehrere Protagone gibt, wie mehrere Fette

¹⁾ Thudichum, Grundzüge der anatomischen u. klinischen Chemie, Berlin 1886.

²⁾ Wir ziehen den von Thudichum benutzten Namen Kerasin der Kürze wegen vor.

oder Lecithine existiren. Auch kennen wir durch die Untersuchungen Drechsel's¹⁾ einen Körper, der in seiner chemischen Constitution dem Protagon ähnlich, aber mit ihm doch nicht identisch ist, nämlich das Jecorin, und dieser Stoff soll nach Baldi²⁾ auch im Gehirn vorkommen.

Als Kennzeichen der Protagonen betrachten wir folgende:

1. Die Substanzen enthalten C, H, N, O, P, zum Theil auch S.

2. Sie liefern bei der Oxydation mit Salpetersäure höhere Fettsäuren.

3. Unter der Einwirkung siedender Schwefelsäure oder Salzsäure werden reducirende Kohlehydrate gebildet.

4. Aus allen Protagonen entstehen durch gelinde Einwirkung der Alkalien die Cerebroside, welche bei weiterer Spaltung in Ammoniak, Zuckerarten (Galactose) und einen dritten Atomcomplex zerfallen; letzterer liefert bei der Oxydation mit Salpetersäure oder beim Schmelzen mit Kali höhere Fettsäuren.

Da die Bildung von Cerebroside aus dem Jecorin noch nicht erwiesen ist, so können wir diese Substanz freilich noch nicht mit Sicherheit zu den Protagonen zählen, obgleich dieser phosphorhaltige Körper höhere Fettsäuren und ein reducirendes Kohlehydrat liefert.

In Bezug auf die Darstellung der Protagonen ist zu bemerken, dass die Löslichkeit derselben durch die Gegenwart anderer Substanzen beeinflusst wird, besonders durch jenen Körper, welchen Frémy als *acide oléophosphorique* und Thudichum als *Kephalin* bezeichnet³⁾. Diese Substanz ist in der Nervensubstanz in salzartiger Verbindung mit Basen enthalten und diese Salze sind, wie das Protagon, in kaltem Alkohol schwer löslich, in heissem leicht löslich und fallen beim Erkalten des Alkohols mit dem Protagon aus. Die

¹⁾ Journal für practische Chemie, N. F., Bd. 33, 1886, S. 425.

²⁾ Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiologische Abtheilung, 1887, Supplement-Bd., S. 100—108.

³⁾ Diese Substanz ist dem Lecithin sehr ähnlich, aber nicht mit Lecithin identisch.

Kephalinsalze sind in Aether sehr leicht löslich und diese Lösung ist im Stande, das an sich in kaltem Aether schwer lösliche Protagon in grossen Mengen aufzulösen. Verdunstet man nun den Aether, welcher Kephalin und Protagon zugleich enthält, und versucht man den Rückstand (nach längerem Stehen im trockenen Zustand) wieder in Aether zu lösen, so bleibt das Protagon zum grössten Theil zurück, während das Kephalin völlig in die ätherische Lösung hineingeht. Diese von uns beobachteten Thatsachen gewähren ein Verständniss für die Darstellung von Frémy's Cerebrinsäure. Den aus ätherischer Lösung gewonnenen und bei erneutem Zusatz von Aether ungelöst zurückbleibenden Körper nannte Frémy «acide cérébrique».

Wenn man das Protagon durch Umkrystallisiren aus Alkohol und durch Waschen mit Aether vom Lecithin und Kephalin befreit hat, so kann man sich von der Abwesenheit dieser Körper durch Prüfung mit Osmiumsäure überzeugen. Das Protagon färbt sich nicht mit diesem Reagens, wie bereits Gad und Heymans angegeben haben¹⁾, während Lecithin und Kephalin sofort schwarze Färbung annehmen.

Wir stellten einige Protagon-Präparate nach dem Verfahren von Liebreich und von Gamgee und Blankenhorn dar (Präp. VII, VIII, X), ferner untersuchten wir den aus ätherischer Lösung gewonnenen Theil, welcher Frémy's Cerebrinsäure entspricht (Präp. III, IV, V). Die Angaben der früheren Untersucher können wir im Wesentlichen bestätigen. Bei der Analyse ergab sich nur insofern eine Abweichung, als unsere Präparate sämmtlich Schwefel enthielten.

Präp. I. 1,4997 gr. Protagon (bei 110° getr.) gab 0,0851 gr. BaSO₄, d. i. 0,78% S²⁾.

Präp. II. 0,7313 gr. Protagon gab 0,0463 gr. BaSO₄, d. i. 0,87% S.

Präp. III. 0,4230 gr. Protagon gab 0,0284 gr. BaSO₄, d. i. 0,92% S.

Präp. IV. 1,0394 gr. Protagon gab 0,0664 gr. BaSO₄, d. i. 0,88% S.

Präp. V. 0,9682 gr. Protagon gab 0,0552 gr. BaSO₄, d. i. 0,78% S.

Präp. X. 0,9992 gr. Protagon gab 0,0372 gr. BaSO₄, d. i. 0,511% S.

Dasselbe. 1,0314 gr. Protagon gab 0,0381 gr. BaSO₄, d. i. 0,507% S.

1) Archiv f. Anatomie u. Physiologie, Physiolog. Abth., 1890, S. 530.

2) Ein Theil der Schwefel- und Phosphorbestimmungen ist von Herrn Dr. M. Krüger ausgeführt worden, dem wir unseren besten Dank abstatten.

Beim Schmelzen des Protagon's mit Alkali bildet sich nur Kaliumsulfat, kein Schwefelkalium, der Schwefel ist also in oxydirter Form, vielleicht als gepaarte Schwefelsäure vorhanden. Bereits Couerbe hatte den Schwefel als Bestandtheil seines Cerebrots angegeben; da es aber als erwiesen galt, dass dieser Forscher kein reines Präparat in Händen hatte, und da Frémy den Schwefelgehalt dieses Körpers ausdrücklich auf Verunreinigung mit Eiweiss zurückführte¹⁾, so ist die Frage nach dem Schwefelgehalt des Protagon's völlig aus den späteren Abhandlungen verschwunden.

Diejenigen Präparate des Protagon's, welche nach einem Verfahren gewonnen waren, welches der Darstellungsweise von Gamgee und Blankenhorn ähnlich ist, zeigten in den Fällen auch den gleichen Phosphorgehalt, z. B.:

Präp. VI. 0,4742 gr. Substanz gaben 0,0181 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 1,066% P.

Präp. VII. 1,0421 gr. Substanz gaben 0,0390 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 1,045% P.

Gamgee und Blankenhorn fanden im Mittel 1,068% P, fast die gleiche Zahl ergibt sich aus Baumstark's Analysen. Hingegen erhielten wir einen höheren Phosphorgehalt in denjenigen Präparaten, welche das ätherische Extract geliefert hatte, z. B.:

Präp. IV. 0,7475 gr. Substanz gaben 0,0360 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 1,35% P.

Wir stellten im Wesentlichen nach dem von Liebreich und Blankenhorn und Gamgee benutzten Verfahren eine grössere Menge Protagon aus Rindshirn dar, um es der Spaltung zu unterwerfen.

Wir führen die Darstellung und die Analyse desjenigen Präparats, welches zu den folgenden Spaltungsversuchen diente, etwas ausführlicher an.

50 frische Rindsgehirne wurden möglichst von den Häuten und Gefässen befreit, zerhackt und mit Alkohol von 85% bei gewöhnlicher Temperatur 24 Stunden digerirt. Darauf wurde der Alkohol abgossen und abgepresst und die Hirnmasse zunächst einer Aetherextraction unterworfen. Der vom Aether

¹⁾ Diese Behauptung Frémy's war unrichtig, denn Couerbe's Cerebrot enthielt mehr Schwefel, als das Eiweiss selbst enthält.

nicht gelöste Theil wurde mit 85procentigem Alkohol mehrere Stunden bei 50° digerirt, der Alkohol abgegossen. Beim Erkalten scheidet sich das Protagon aus. Die Extraction mit heissem Alkohol wurde so lange fortgesetzt, als dieser noch beim Erkalten eine nennenswerthe Ausscheidung von Protagon ergab. Das Protagon wurde nun noch zur Entfernung des Cholesterins mit Aether ausgewaschen. Die Menge des reinen Protagons betrug 150 gr. Bei dieser Darstellung wurden wir in Folge freundlicher Vermittelung des Herrn Dr. Bannow durch die Fabrik von C. A. F. Kahlbaum unterstützt, wofür wir unseren besten Dank abstatten.

Die Analyse dieses Protagon-Präparats ergab Folgendes:

1. 0,2644 gr. Protagon gaben 0,6404 gr. CO₂ und 0,2758 gr. H₂O, d. i. 66,08% C und 11,48% H.
2. 0,2366 gr. Protagon gaben 0,5758 gr. CO₂ und 0,2344 gr. H₂O, d. i. 66,35% C und 11,00% H.
3. 0,1092 gr. Protagon gaben 0,2654 gr. CO₂ und 0,1072 gr. H₂O, d. i. 66,32% C und 10,92% H.
4. 0,629 gr. Protagon gaben 17,9 cbcm. N bei 21° und 751 mm. Bar., d. i. 3,20% N.
5. 0,5562 gr. Protagon gaben 15,5 cbcm. N bei 18,9° und 757,5 mm. Bar., d. i. 3,28% N.
6. 0,5224 gr. Protagon gaben 14,5 cbcm. N bei 21,5° und 762,5 mm. Bar., d. i. 3,27% N.
7. 0,8092 gr. Protagon gaben 0,0277 gr. Mg₂P₂O₇, d. i. 0,96% P.
8. 0,8136 gr. Protagon gaben 0,0279 gr. Mg₂P₂O₇, d. i. 0,95% P.
9. 0,7979 gr. Protagon gaben 0,0283 gr. Mg₂P₂O₇, d. i. 0,99% P.
- 10 und 11. S-Best. s. oben Präp. X.

Ein besonderer Versuch ergab, dass das Protagon frei von Alkalien war.

Die Resultate unserer Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
C	66,08	66,35	66,32	—	—	—	—	—	—	—	—
H	11,48	11,00	10,92	—	—	—	—	—	—	—	—
N	—	—	—	3,20	3,28	3,27	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	0,96	0,95	0,99	—	—
S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,511	0,507

Das Verhältniss des Mittels aus den Analysen dieses Präparates zu den Ergebnissen der früheren Untersucher

ist aus folgender Zusammenstellung ersichtlich. Da es für die folgenden Versuche nicht unbedingt nothwendig war, einen der Körper, welche unter dem Namen der «Protagon» zusammengefasst werden, zu isoliren, so haben wir eine weitere Fractionirung dieses Präparates nicht vorgenommen. Wir lassen daher die Frage nach der chemischen Individualität desselben vorläufig unberührt und es muss späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, zu entscheiden, ob etwa das Kerasin aus dem einen, das Cerebrin aus einem anderen Protagon hervorgeht, ob man Protagon herstellen kann, die schwefelfrei sind u. s. w.

	Cerebrinsäure Frémy's.	Protagon von			Mittel- unsere Analysen. Präp. X.
		Liebreich.	Gamgee und Blankenhorn.	Baumstark.	
C	66,7	66,74	66,39	66,48	66,25
H	10,6	11,74	10,69	11,12	11,13
N	2,3	2,80	2,39	2,35	3,25
P	0,9	1,23	1,06	1,02	0,97
S	—	—	—	—	0,51
O	19,5	17,40	19,46	—	17,85

2. Bildet sich Cerebrin und Kerasin aus Protagon?

Die Frage, ob das Cerebrin als chemisches Individuum im Nervenmark vorhanden ist, oder ob es aus der Zersetzung einer höheren Verbindung hervorgeht, ist bisher noch zweifelhaft geblieben. Hoppe-Seyler betrachtete das Protagon als lockere Verbindung von Lecithin und Cerebrin. Nach Parcus¹⁾ sind die Cerebroside wahrscheinlich als solche in der Nervensubstanz vorgebildet, Baumstark erhielt aus dem Protagon eine cerebrinähnliche, nicht analysirte Substanz, Thudichum ist der Ansicht, dass die Cerebroside nicht aus einer complicirteren phosphorhaltigen Verbindung hervorgehen.

¹⁾ Parcus, Ueber einige neue Gehirnstoffe, Inaug.-Diss., Leipzig 1881. — Derselbe, Journal für pract. Chemie, (2), Bd. 24, S. 310.

Die Entscheidung dieser Frage musste nach unserer Ansicht allen weiteren Untersuchungen über das Nervenmark vorangehen. Wir glauben durch die folgenden Versuche den sicheren Nachweis geliefert zu haben, dass das Cerebrin und das Kerasin wirklich Zersetzungsproducte der Protagonen sind.

Zur Gewinnung der Cerebroside hat man bisher die Gehirnschubstanz mit siedendem Barytwasser zersetzt und aus dem abgetrennten Gemisch die Cerebroside mit Alkohol ausgezogen. Diese Methode hat grosse Nachtheile. Kocht man die Gehirnschubstanz längere Zeit mit Barytwasser, so tritt eine Zersetzung der Cerebroside ein. Wirkt hingegen das Barytwasser kürzere Zeit, so erhält man ein Gemisch von Cerebroside mit phosphorhaltigen organischen Verbindungen, welches nicht zu trennen ist.

Wir wandten für die Zersetzung des Protagonen ein Verfahren an, welches eine quantitative Ausbeute an Cerebrin und Kerasin liefert und allgemeiner Anwendung für die Darstellung von Cerebrosiden fähig ist. Das Protagon wurde in Methylalkohol gelöst und die Lösung bei Wasserbadtemperatur mit einer methylalkoholischen Lösung von Aetzbaryt versetzt. Sofort bildet sich ein voluminöser, weisser Niederschlag, welcher eine Verbindung von Cerebrin und Kerasin mit Baryt enthält. Man digerirt die Flüssigkeit noch einige Minuten auf dem Wasserbad und filtrirt sodann den Niederschlag ab. Derselbe wird mit barythaltigem Methylalkohol einmal ausgewaschen und in Wasser zertheilt. Durch die Flüssigkeit leitet man jetzt einen anhaltenden Strom von Kohlensäure, filtrirt den aus kohlen-saurem Baryt und Cerebrosiden bestehenden Niederschlag ab, wäscht denselben mit Alkohol und zieht ihn sodann bei 50° mit absolutem Alkohol aus. Bei dieser Temperatur gehen die Verunreinigungen, welche sonst den Cerebrosiden hartnäckig anhaften, insbesondere die Barytseifen der höheren Fettsäuren, nur zum geringen Theil in den Alkohol über. Die letzten Reste barythaltiger Verbindungen werden entfernt, indem man sie zunächst in der von Parcus beschriebenen Weise anreibt und mit einem anhaltenden Strom von Kohlensäure behandelt. Den abfiltrirten Niederschlag nimmt man mit absolutem Alkohol bei 50° auf.

Aus dem Alkohol krystallisirt beim Erkalten auf Zimmertemperatur zunächst vorwiegend Cerebrin, welches nach zwei Stunden abfiltrirt wird, später vorwiegend Kerasin, dessen Abscheidung erst nach 5—6 Tagen beendet ist. Nach dem Eindampfen des Alkohols erhält man weitere Mengen dieser Substanzen. Die vollständige Zerlegung der Gemische in Cerebrin und Kerasin war nach achtmaligem Umkrystallisiren aus Alkohol erreicht.

Auf die Darstellung des Enkephalins mussten wir verzichten, da wir bei der Verarbeitung der geringen Mutterlaugen keine zuverlässigen Resultate erwarteten.

Die Eigenschaften und die Ergebnisse der Analysen stimmen vollkommen mit den Resultaten der früheren Forscher überein.

Das Cerebrin stellte ein weisses, kreideähnliches Pulver dar, welches sich unter dem Mikroskop als aus kleinen, häufig radiär gestreiften Knöllchen bestehend erwies. In concentr. Schwefelsäure löst es sich langsam, bei schwachem Erwärmen nimmt die Lösung eine blutrothe Färbung an.

Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht liefert es eine reducirende Zuckerart, welche nach Thierfelder mit Galactose identisch ist.

Unser Präparat schmolz bei 176° . Parcus gibt 170° als Schmelzpunkt an.

Dasselbe enthielt noch eine Spur barythaltiger Asche. Die Analysen¹⁾ führten zu folgenden Zahlen:

1. 0,1485 gr. Substanz gaben 0,3754 gr. Kohlensäure und 0,1567 gr. Wasser, d. i. 69,09% C und 11,74% H.
2. 0,0904 gr. Substanz gaben 0,2277 gr. CO_2 und 0,0936 gr. H_2O , d. i. 68,87% C und 11,50% H.
3. 0,1011 gr. Substanz gaben 0,2556 gr. CO_2 und 0,1035 gr. H_2O , d. i. 69,10% C und 11,40% H.
4. 0,1025 gr. Substanz gaben 0,2585 gr. CO_2 und 0,1058 gr. H_2O , d. i. 68,91% C und 11,43% H.
5. 0,5498 gr. Substanz gaben 11,3 cbcm. Stickstoff bei $19,5^{\circ}$ und 741 mm. Bar., d. i. 2,29% N.

¹⁾ Bei der Berechnung der Analyse ist die Asche in Abzug gebracht.

6. 0,6764 gr. Substanz lieferten 13,80 cbcm. Stickstoff bei 18,5° und 745 mm. Bar., d. i. 2,30% N.
 7. 0,6345 gr. Substanz lieferten 12,1 cbcm. Stickstoff bei 20,2° und 762 mm. Bar., d. i. 2,19% N.
 8. 0,4498 gr. Substanz gaben 0,0009 gr. Asche, d. i. 0,2%.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
C	69,09	68,87	69,10	68,91	—	—	—
H	11,74	11,50	11,40	11,43	—	—	—
N	—	—	—	—	2,29	2,3	2,19

In der folgenden Tabelle ist das Mittel dieser Analysen mit den Ergebnissen von Müller¹⁾, Geoghegan²⁾, Parcus³⁾ und Thudichum⁴⁾ zusammengestellt.

	Müller (1858).	Geoghegan (1879).	Parcus (1881).	Thudichum ⁵⁾ (1886) («Phrenosin»).	K. u. F. (1891).
C	68,45	68,74	69,08	69,00	68,99
H	11,20	10,91	11,47	11,08	11,52
N	4,60	1,44	2,13	1,96	2,25
O	15,75	18,91	17,32	17,96	17,24

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, dass die für unser aus Protagon dargestelltes Cerebrin gefundenen Zahlen mit denen von Parcus genau übereinstimmen. Thudichum's Phrenosin vom Jahre 1886 ist wahrscheinlich als ein fast reines Cerebrin zu betrachten. Die früheren Angaben von Thudichum weichen viel mehr von unseren und den Parcus'schen Ergebnissen ab.

Diejenigen Formeln, welche mit diesen Analysenzahlen stimmen, sind, wie schon Parcus anführt, folgende:

1. $C_{70}H_{140}N_2O_{13}$.
2. $C_{76}H_{154}N_2O_{14}$.
3. $C_{80}H_{160}N_2O_{15}$.

¹⁾ Müller, Ann. d. Chem., 105, N. R., Bd. 29, 1858, S. 36.

²⁾ Geoghegan. diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 332.

³⁾ Parcus, l. c.

⁴⁾ Thudichum, Grundzüge der anatomischen u. klinischen Chemie. S. 53, Berlin 1886.

⁵⁾ Aus den Angaben Thudichum's ergibt sich nicht, ob es sich um eine einzelne Analyse oder einen Mittelwerth handelt.

Das Kerasin oder Homocerebrin, welches aus Protagon dargestellt wurde, entsprach völlig der Beschreibung von Parcus. Besonders auffallend ist die physikalische Beschaffenheit, welche von der des Cerebrins sehr abweicht. Das Kerasin scheidet sich aus seinen Lösungen zuweilen in Flocken, meist als durchsichtige Gallerte ab, welche aus sehr feinen und langen, nur bei stärkerer Vergrößerung sichtbaren Nadeln besteht. Beim Trocknen schrumpft es zu einer hornartigen Masse ein. Beim vorsichtigen Erhitzen sinterte es bei 130° unter schwacher Gelbfärbung zusammen und schmolz bei 156° zu klarer Flüssigkeit. Parcus gibt 155° als Schmelzpunkt an. Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure lieferte es, ebenso wie das Cerebrin, eine reducirende Substanz. Unser Präparat hinterliess beim Verbrennen keine Spur von Asche.

Die Analysen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. 0,0878 gr. Substanz lieferten 0,2254 gr. CO_2 und 0,0928 gr. H_2O , d. i. 70,04% C und 11,71% H.
2. 0,1109 gr. Substanz lieferten 0,2842 gr. CO_2 und 0,1156 gr. H_2O , d. i. 69,91% C und 11,59% H.
3. 0,1013 gr. Substanz lieferten 0,2597 gr. CO_2 und 0,1064 gr. H_2O , d. i. 69,99% C und 11,65% H.
4. 0,0987 gr. Substanz lieferten 0,2536 gr. CO_2 und 0,1032 gr. H_2O , d. i. 70,09% C und 11,64% H.
5. 0,6390 gr. Substanz lieferten 12,3 cbcm. Stickstoff bei $17,5^{\circ}$ und 750 mm. Bar., dies ergibt 2,20% N.
6. 0,5306 gr. Substanz gaben 10,7 cbcm. Stickstoff bei $22,5^{\circ}$ und 761 mm. Bar., d. i. 2,28% N.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
C	70,04	69,91	69,99	70,09	—	—
H	11,71	11,59	11,65	11,64	—	—
N	—	—	—	—	2,20	2,28

	«Homocerebrin» von Parcus (1881).	Kerasin aus Ochsen- hirn von Thudichum (1886).	Mittel der Analysen des Kerasins aus Protagon K. und F. (1891).
C	70,06	69,54	70,00
H	11,595	11,69	11,69
N	2,23	1,92	2,24
O	16,11	16,85	16,14

Auch in diesem Fall zeigte sich eine vollständige Uebereinstimmung der Analysen unseres aus Protagon dargestellten Körpers mit dem Homocerebrin von Parcus. Die im Jahre 1886 von Thudichum publicirte Analyse weicht schon einigermaßen von unseren Ergebnissen ab. Es scheint, als ob den Analysen Thudichum's nur ein fast reines Präparat zu Grunde gelegen habe, obgleich es durch «häufiges Umkrystallisiren» von 70 gr. Kerasin gewonnen war. Noch weniger rein scheinen die übrigen von Thudichum analysirten Kerasinpräparate gewesen zu sein.

Die Formeln, welche für das Kerasin in Betracht kommen, sind folgende:



Wir haben durch diese Versuche den Beweis geliefert, dass die von uns als Cerebrin und Kerasin bezeichneten, aus dem Protagon dargestellten Stoffe wirklich mit dem Cerebrin und «Homocerebrin» von Parcus identisch sind.

Die Menge des Cerebrins und Kerasins betrug ungefähr 50 Procent des angewandten Protagons.

Man wird wohl kaum den Einwand machen, dass unser Protagon diese 50 Procent der Cerebroside als Beimengung enthalten habe. Diese Ansicht ist aus folgenden Gründen nicht haltbar:

1. Das Protagon existirt in einer in kaltem Aether ziemlich löslichen, in warmem Aether leicht löslichen Modification. Das Cerebrin ist bisher stets in Aether unlöslich befunden worden, das Kerasin ist sehr schwer in Aether löslich. Wenn diese in Aether z. Th. unlöslichen, z. Th. sehr schwer löslichen Stoffe in einer Menge von 50% aus einem löslichen hervorgehen, so wird man annehmen müssen, dass sie der Zersetzung einer chemischen Bindung ihren Ursprung verdanken.

2. Das Protagon wird durch gewisse Manipulationen, besonders durch die Einwirkung von stärkerem Alkohol, in eine Modification übergeführt, welche in siedendem Alkohol

sehr schwer löslich ist. Kocht man das schwer lösliche Protagon im Alkohol aus, so müsste alles mechanisch beigemengte Cerebrin und Kerasin entfernt werden. 1 gr. schwer lösliches Protagon wurde 5mal mit Alkohol auf dem Wasserbade ausgekocht. Die Alkoholmenge betrug jedesmal 200 ccm. Beim Erkalten des abfiltrirten Alkohols schied sich jedesmal eine geringe Menge durchsichtiger, mikroskopisch erkennbarer Knollen ab, welche sich als phosphorhaltig erwiesen und bei der Zersetzung mit siedender Schwefelsäure eine reducirende Substanz ergaben, welche also Protagon enthielten. Der nach fünfmaligem Auskochen gebliebene Rückstand in der oben beschriebenen Weise mit Baryt zersetzt, lieferte noch Cerebrin, als einen in warmem Alkohol leicht löslichen Körper. Diese Thatsache kann nur durch eine, wenn auch lockere Bindung des Cerebrins im Protagon erklärt werden.

3. Die Krystalle des Protagon sind leicht von denen des Cerebrins und Kerasins zu unterscheiden. Erstere bilden ziemlich scharf conturirte Knollen mit gezackten Rändern (radiär gestellte Blättchen), das Cerebrin zeigt schwach lichtbrechende Knollen mit glatten Rändern, das Kerasin eine verfilzte Masse von feinen langen Nadeln. Eine Beimischung, wenn auch nur in geringen Mengen, liesse sich bei mikroskopischer Untersuchung nicht übersehen.

Unsere Untersuchungen führen somit zu dem Schluss, dass sowohl das Cerebrin wie das Kerasin als Zersetzungsproducte des Protagon zu betrachten sind.

3. Bestimmung des Molekulargewichts vom Kerasin mit Hilfe der Siedemethode.

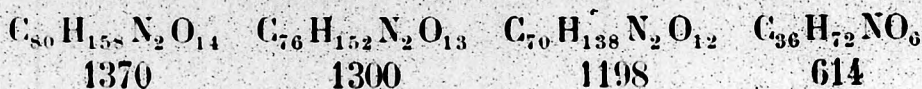
Während Parcus für das Cerebrin und Kerasin die oben erwähnten Formeln mit 2 Atomen Stickstoff discutirte, glaubt Thudichum der Formel $C_{41}H_{79}NO_8$ für das Cerebrin (Phrenosin) den Vorzug ertheilen zu müssen und gibt für das Kerasin Formeln mit 42, 44 und 46 Atomen Kohlenstoff.

Wir haben versucht, durch die Siedemethode von Beckmann einige Anhaltspunkte für die Grösse des Moleküls zu

gewinnen. Es wurde für diese Versuche das Kerasin als die leichter lösliche Substanz gewählt. In Anbetracht der Grösse des Molekulargewichts konnte nur eine annähernde Richtigkeit erwartet werden. Als Lösungsmittel diente Eisessig.

	Gelöste Menge des Kerasins.	Erhöhung des Siedepunktes.	Daraus berechnetes Molekul ar- gewicht.
		Versuch 1. 48,1 gr. Eisessig.	
1.	0,5930	0,033	945,2
		Versuch 2. 50,3 gr. Eisessig.	
2a.	0,6330	0,031	1027
2b.	0,5674	0,034	972

Die Formeln, welche nach unseren Analysen in Betracht kommen, ergeben folgende Molekulargewichte:



Eine Entscheidung zwischen den angeführten Formeln lässt sich durch diese Versuche nicht treffen, wohl aber kann man ein Multiplum der Formeln mit 2 Atomen Stickstoff ausschliessen. Weitere Anhaltspunkte für die Grösse des Molekulargewichts ergeben sich aus den folgenden Versuchen.

4. Ueber einige Verbindungen des Cerebrins und Kerasins.

Barytverbindung. Aus der von uns benutzten Darstellungsweise der Cerebrine geht hervor, dass diese Substanzen Verbindungen mit Baryt bilden können. Wir haben in der im Vacuum getrockneten, mit Alkohol ausgewaschenen Barytverbindung des Cerebrins 1) 19,48, 2) 19,74, 3) 19,93% Baryt (BaO) gefunden. Unter der Einwirkung der Kohlensäure zerfällt diese lockere Verbindung.

Die Einführung organischer Atomcomplexe in die Cerebroside ist nicht schwierig, aber die entstehenden Verbindungen sind in Alkohol und Aether sehr löslich und krystallisiren nicht leicht, deshalb haben wir sie nicht genauer untersucht. Es sei nur erwähnt, dass man eine Benzoylverbindung des Cerebrins als weiche, wachsartige, in Alkohol

und Aether leicht lösliche Masse erhält, wenn man Cerebrin mit Benzoësäureanhydrid im Oelbade auf 150° erhitzt oder in Benzol gelöstes Cerebrin bei Wasserbad-Temperatur mit Benzoylchlorid digerirt. Auch das Nitrobenzoylcerebrin, welches wir aus Nitrobenzoylchlorid und Cerebrin darstellten, zeigte die gleichen, zur weiteren Untersuchung wenig einladenden Eigenschaften und eben so wenig gelang es uns in der Pikryl- und Benzolsulfon-Verbindung des Cerebrins Substanzen ausfindig zu machen, deren Eigenschaften zu weiterer Untersuchung geeignet gewesen wären.

Bromverbindungen. Wenn man fein zerriebenes Cerebrin in Benzol aufschwemmt und bei einer Temperatur von $30-35^{\circ}$ Brom hinzufügt, welches in Benzol gelöst ist, so verschwindet die gelbe Farbe des Broms ziemlich schnell und das Cerebrin geht in Lösung. Zur Darstellung des Bromcerebrins setzt man so lange Brom in Benzol gelöst hinzu, bis weder eine Gelbfärbung durch freies Brom, noch überschüssiges Cerebrin vorhanden ist. Lässt man diese Lösung an der Luft verdunsten, so bleibt eine glasige, fast völlig durchsichtige Schicht zurück, die sich nach mehrtägigem Verweilen im Vacuum pulverisiren lässt. Das Pulver ist in Benzol sehr leicht, in Aether und Alkohol etwas weniger leicht löslich und enthielt in einem Falle $16,66\%$, in einem zweiten $16,30\%$ Br.

1. 0,5916 gr. Bromcerebrin mit Soda und Salpeter verascht gab 0,2318 gr. AgBr, d. i. $16,66\%$ Br.
2. 0,6093 gr. Bromcerebrin gab 0,2334 gr. AgBr, d. i. $16,30\%$ Br.

Auch die Bromverbindung des Kerasins, die in gleicher Weise dargestellt war, wurde nicht in krystallisirtem Zustande erhalten. Die Analyse des Bromkerasins ergab in einem Falle $17,25\%$ Br, in einem zweiten Falle $16,93\%$ Br.

1. 0,7191 gr. Bromkerasin gab 0,2914 gr. AgBr, d. i. $17,25\%$ Br.
2. 0,7310 gr. Bromkerasin gab 0,2907 gr. AgBr, d. i. $16,93\%$ Br.

Das Bromkerasin ist optisch activ¹⁾ und zwar beträgt die spezifische Drehung $[\alpha]_D = -12^{\circ} 48'$ bei Zimmertemperatur;

¹⁾ Eine Untersuchung des Cerebrins und Kerasins im Polarisationsapparat ist wegen der Schwerlöslichkeit dieser Körper bei gewöhnlicher Temperatur nicht ausführbar.

für diese Bestimmung ist eine Lösung in Benzol, enthaltend 11% Bromkerasin, benutzt worden.

Der Bromgehalt entspricht sowohl beim Cerebrin, wie beim Kerasin dem Eintritt von 3 Atomen Brom auf 2 Atome Stickstoff der Cerebroside.

	Berechnet für Tribromcerebrin	Gefunden:
	$C_{70}H_{137}Br_3N_2O_{13}$:	
Br	16,52	16,66 und 16,30.
	Berechnet für Tribromkerasin	Gefunden:
	$C_{70}H_{135}Br_3N_2O_{12}$:	
Br	16,72	17,25 und 16,93.

Diese Ergebnisse stimmen ebenso wie die Molekulargewichts-Bestimmung am besten zu einer Formel mit 70 Atomen Kohlenstoff.

Leider war das schwer zu beschaffende Material, dessen vollständige Analyse von grossem Werth gewesen wäre, mit diesen Brombestimmungen erschöpft.

5. Zersetzung des Cerebrins und Kerasins durch Salpetersäure.

Geoghegan¹⁾ erhielt durch die Einwirkung der siedenden Schwefelsäure auf Cerebrin eine Substanz, welche er als Cetylid bezeichnete und welche nach seiner Ansicht vielleicht der Formel $C_{22}H_{42}O_8$ entspricht. Das Cetylid entwickelt unter der Einwirkung des schmelzenden Kalis Sumpfgas und Wasserstoff und geht zugleich in Palmitinsäure über.

Thudichum²⁾ gibt an, er habe durch die Einwirkung von 2% Schwefelsäure bei 130° auf Phrenosin (Cerebrin) eine Säure von der Zusammensetzung $C_{18}H_{36}O_2$ gewonnen, welche bei 84° schmelze. Thudichum bezeichnet dieselbe als Neurostearinsäure.

Wir haben versucht, die Menge der fetten Säuren zu bestimmen, welche bei der Zersetzung des Cerebrins und Kerasins gebildet werden. Hierbei bedienten wir uns der Salpetersäure,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 332.

²⁾ Grundzüge, S. 54 u. f.

welche, wie schon Müller beobachtete, unter Bildung einer fettähnlichen Substanz auf das Cerebringemisch einwirkt.

Müller analysirte dies Product, erkannte es aber nicht — es ist Stearinsäure.

	Müller's Analyse (1858):	Berechnet für Stearinsäure:
C	75,52	76,06
H	12,92	12,67

Wir wurden auf diese Analyse Müller's erst aufmerksam, nachdem wir selbst die Stearinsäure als Oxydationsproduct des Cerebrins und Kerasins nachgewiesen hatten.

Für die quantitativen Bestimmungen der aus dem Cerebrin und Kerasin entstehenden Fettsäuren diente siedende Salpetersäure, welche aus einem Theil concentrirter Salpetersäure und 3 Theilen Wasser zusammengesetzt war. Zunächst überzeugten wir uns, dass eine solche Säure Stearinsäure auch bei längerem Kochen nicht angreift. Dann verfahren wir in folgender Weise: Die abgewogene Menge des Cerebrins wurde in einem kleinen Kölbchen mit 15 cbcm. concentrirter Salpetersäure vom spec. Gew. 1,52 übergossen, umgeschüttelt und sodann die nöthige Menge Wasser hinzugefügt. Das Gemisch wurde nun mit Rückflusskühler versehen, unter fortwährendem Umschütteln auf dem Wasserbad erwärmt. Die Einwirkung muss Anfangs sorgfältig beobachtet werden, da die Masse heftig schäumt. Wenn die Gasentwicklung nur noch langsam vor sich geht, wird der Inhalt des Kölbchens über kleiner Flamme mehrere Stunden in schwachem Sieden erhalten. Nach dem Erkalten wird die Salpetersäure von der erstarrten Masse abgegossen und letztere zur Entfernung des Restes der Säure noch einige Male mit Wasser ausgekocht. Die Stearinsäure wurde zum Schluss auf einem gewogenen Filter gesammelt, im Wägegäschen bei 90° getrocknet und gewogen.

1. 2,7400 gr. Cerebrin gaben 1,8667 gr. Stearinsäure, d. i. 68,12%.
2. 0,9300 gr. Cerebrin gaben 0,6360 gr. Stearinsäure, d. i. 68,38%.
3. 0,9546 gr. Cerebrin gaben 0,6470 gr. Stearinsäure, d. i. 67,67%.

Die Schmelzpunkte der erhaltenen Fettsäuren lagen alle zwischen 70° und 71,5°. Die geringe Erhöhung des Schmelz-

punktes ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass dieselben eine geringe Menge unzersetztes Cerebrin einschlossen. Durch fractionirte Krystallisation wurden drei Proben dargestellt. Die beiden ersten Fractionen begannen bei 69° zu schmelzen und waren bei $70,5^{\circ}$ völlig flüssig, die dritte Fraction begann bei 75° zu schmelzen und war erst bei 78° ganz geschmolzen. Demnach sind die erhaltenen Procentzahlen für die Stearinsäure um ein Geringes zu hoch. Dass in der untersuchten Säure wirklich Stearinsäure vorlag, wurde noch durch die Ueberführung in das Barytsalz und Analyse desselben nachgewiesen. Dasselbe enthielt $19,23\%$ Ba; stearinsaurer Baryt verlangt $19,48\%$ Ba, palmitinsaurer Baryt $21,17\%$ Ba.

In gleicher Weise wurde die Zersetzung des Kerasins ausgeführt.

1. 0,9284 gr. Kerasin gaben 0,6913 gr. Stearinsäure, d. i. $74,46\%$.
2. 0,9179 gr. Kerasin gaben 0,6798 gr. Stearinsäure, d. i. $74,06\%$.
3. 0,9327 gr. Kerasin gaben 0,6949 gr. Stearinsäure, d. i. $74,50\%$.

Auch diese Zahlen sind ein wenig zu hoch. Zwar schmolzen die gewonnenen Fettsäure-Producte übereinstimmend zwischen 69 und $70,5^{\circ}$, aber durch fractionirte Krystallisation liess sich aus denselben eine zwischen 73 und 75° schmelzende Fraction darstellen. Dass auch in diesem Fall der Einfluss geringer Spuren unangegriffenen Kerasins die Ursache für die Erhöhung des Schmelzpunktes war, liess sich leicht nachweisen. Denn ein erneutes Sieden mit Salpetersäure bewirkte eine Erniedrigung des Schmelzpunktes dieses letzten Theils, so dass derselbe zwischen 69 und 70° lag.

Eine wichtige Schlussfolgerung auf die Constitution des Cerebrins ergibt sich, wenn man die erhaltenen Mengen der Stearinsäure zu dem Stickstoff dieses Körpers in Beziehung setzt. Das Verhältniss beider ist nämlich ein derartiges, dass aus dem Cerebrin drei Moleküle Stearinsäure für je zwei Atome Stickstoff gebildet werden.

Stearinsäure berechnet in Procenten des Cerebrins:	Gefunden:		
68,5	1.	2.	3.
	68,12	68,38	67,67.

Beim Kerasin ist die Uebereinstimmung nur eine annähernde.

Stearinsäure berechnet in Procenten des Kerasins:	Gefunden:		
	1.	2.	3.
68,2	74,46	74,06	74,50.

Es ergibt sich also, dass die Resultate der Elementaranalysen, der Molekulargewichtsbestimmungen, der Analyse der Bromverbindungen und des Studiums der Zersetzungsproducte alle zu dem gleichen Resultat führen: zu einer der Formeln mit 2 Atomen Stickstoff, und zwar halten wir für Cerebrin die Formel $C_{70}H_{140}N_2O_{13}$, für das Kerasin die Formel $C_{70}H_{138}N_2O_{12}$ für die wahrscheinlichste.

Die Angabe von Geoghegan, dass durch schmelzendes Kali aus der im Cerebrin oder Kerasin enthaltenen «Cetylid»-Gruppe Palmitinsäure gebildet werde, steht mit unseren Oxydationsversuchen, welche zu Stearinsäure führten, nicht im Widerspruch. Wir erinnern daran, dass Langer¹⁾ bei der Oxydation der Lycopodiumölsäure eine Isocaprinsäure erhielt, während bei der Kalischmelze aus derselben Atomgruppe Isobuttersäure gebildet wurde. Diese Thatsache darf nicht wunderbar erscheinen, wenn man erwägt, dass die mehrfache Bindung der Kohlenstoffatome unter einander in den Molekülen organischer Körper oft mit grosser Leichtigkeit ihren Ort wechselt.

6. Ueber die Verbreitung der Cerebroside im Thierkörper.

Eine scharfe Abgrenzung derjenigen Verbindungen, welche wir als Protagon bezeichnen, ist heute noch nicht möglich. Wie schon oben erwähnt, finden wir in dem Jecorin einen Körper, dessen Zugehörigkeit zur Protagongruppe zwar wahrscheinlich, aber doch noch zweifelhaft ist. Vorläufig müssen wir mit dem Namen «Protagon» alle diejenigen phosphorhaltigen Körper bezeichnen, welche unter Bildung von Cerebrosiden zerlegt werden können. Cerebroside sind

¹⁾ Archiv der Pharmacie, (3), Bd. 27, S. 241; Bd. 265, S. 289; Bd. 309, S. 625.

diejenigen stickstoffhaltigen, phosphorfreien Verbindungen, welche durch die Einwirkung verdünnter Säuren unter Bildung eines reducirenden Kohlehydrats gespalten und ferner durch schmelzendes Kali und durch die Oxydation mit Salpetersäure in eine höhere Fettsäure (Palmitinsäure, Stearinsäure) übergeführt werden.

Die Cerebroside finden sich in allen markhaltigen Nervenfasern. Wir haben, um die Nervenmasse eines tiefstehenden Wirbelthieres zu untersuchen, das Gehirn eines Störs auf Cerebrin verarbeitet. Der Fisch wog 16 Kilo, sein Gehirn in feuchtem Zustand 3 Gramm und davon entfiel noch ein beträchtlicher Theil auf die daran hängenden Enden des Trigemini. Es gelang uns, aus dieser Nervenmasse ein Cerebrosid (wahrscheinlich Cerebrin) darzustellen und an seinen charakteristischen Eigenschaften, insbesondere an der Bildung des reducirenden Kohlehydrats, zu erkennen.

Das Vorkommen der Cerebroside in den zelligen Elementen wurde zuerst von Hoppe-Seyler¹⁾ mit Sicherheit festgestellt. Zwar liegt schon eine ältere Angabe von Lehmann²⁾ über die «Cerebrinsäure» im Eiter vor, aber es ist unzweifelhaft, dass Lehmann in diesem Falle kein Cerebrosid in Händen gehabt hat.

Hoppe-Seyler (l. c.) erwies, dass diese Substanz theilweise in Verbindung mit einem phosphorhaltigen Atomcomplex aus Alkohol auskrystallisirt, dass sie aber phosphorfrei dargestellt werden kann, dass sie 1,9% N enthält und bei der Zersetzung mit Schwefelsäure einen reducirenden Körper liefert. Ist diese Substanz Cerebrin, Kerasin, oder Enkephalin? Oder liegt etwa ein neues Glied dieser Gruppe vor?

¹⁾ Hoppe-Seyler, Medic.-chemische Untersuchungen, Berlin 1866—71, S. 486.

²⁾ Lehmann, Zoochemie, 1858, in Gmelin-Kraut's Handbuch der Chemie, Bd. 8.

Wir haben zur Entscheidung dieser Frage 4—5 Liter Eiter, welcher hauptsächlich aus pleuritischen Ergüssen stammte, unter Alkohol gesammelt. Die durch den Alkohol coagulirte Eitermasse wurde mit grösseren Mengen Alkohol ausgekocht und filtrirt, beim Erkalten des Alkohols setzte sich ein reichlicher Niederschlag ab, welcher sich bei erneutem Erwärmen mit Alkohol nur zum geringen Theil löste. Aus dem heiss filtrirten Alkohol schied sich beim Erkalten eine hellgelbe Masse aus, welche mit Aether ausgewaschen und sodann in warmem Methylalkohol gelöst wurde. Die Lösung wurde mit methylalkoholischer Barytlösung auf dem Wasserbade digerirt und in der oben beschriebenen Weise auf Cerebroside verarbeitet.

Durch vielfaches Umkrystallisiren wurden zwei Körper erhalten, welche bei weiterem Umkrystallisiren ihre Eigenschaften nicht mehr änderten und welche daher als chemische Individuen betrachtet werden müssen. Diese Substanzen gehören zu den Cerebroside, sind aber mit keinem bisher bekannten Körper aus dieser Gruppe identisch. Wir schlagen für dieselben die Namen Pyosin und Pyogenin vor.

Das Pyosin ist der in Alkohol schwerer lösliche Körper. Derselbe stellt ein feines weisses Pulver vor, welches ohne Bräunung bei 100° getrocknet werden kann. Bei längerem Erhitzen auf 217° tritt eine leichte Gelbfärbung ein, bei 238° schmilzt die Substanz. Das Pyogenin beginnt unter leichter Gelbfärbung bei 201° zu sintern und schmilzt bei 221—222°. Der Schmelzpunkt änderte sich beim Umkrystallisiren nicht. Beide Körper gaben mit conc. Schwefelsäure Rothfärbung und spalteten beim Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure eine reducirende Substanz ab. Sie enthalten keinen Phosphor und lassen beim Verbrennen keine Asche zurück. Sie besitzen im Allgemeinen die Löslichkeitsverhältnisse des Cerebrins und Kerasins, doch sind sie noch leichter in Alkohol löslich als das letztere. Sie bilden ein weisses feinkörniges Pulver, welches ohne Gelbfärbung auf 100° erhitzt werden kann. Beide bilden Verbindungen mit Baryt, welche den früher erwähnten ähnlich sind.

Die Analysen ergaben folgende Resultate:

A. Analysen des Pyosins.

1. 0,1220 gr. Substanz gaben 0,2881 gr. CO₂ und 0,1164 gr. H₂O, d. i. 64,34% C und 10,56% H.
2. 0,0798 gr. Substanz gaben 0,2301 gr. CO₂ und 0,0910 gr. H₂O, d. i. 64,39% C und 10,35% H.
3. 0,1060 gr. Substanz gaben 0,2497 gr. CO₂ und 0,0991 gr. H₂O, d. i. 64,29% C und 10,40% H.
4. 0,2433 gr. Substanz gaben 5,8 cbcm. N bei 22,5° und 749 mm. Bar., d. i. 2,64% N.

	1.	2.	3.	4.	Mittel:
C	64,34	64,39	64,29	—	64,34
H	10,56	10,35	10,40	—	10,43
N	—	—	—	2,64	2,64
O	—	—	—	—	22,59

B. Analysen des Pyogenins.

1. 0,0980 gr. Substanz gaben 0,2246 gr. CO₂ und 0,0928 gr. H₂O, d. i. 62,55% C und 10,51% H.
2. 0,0847 gr. Substanz gaben 0,1949 gr. CO₂ und 0,0792 gr. H₂O, d. i. 62,69% C und 10,39% H.
3. 0,3026 gr. Substanz gaben 6,5 cbcm. N bei 18° und 762 mm. Bar., d. i. 2,48% N.

	1.	2.	3.	Mittel:
C	62,55	62,69	—	62,62
H	10,51	10,39	—	10,45
N	—	—	2,48	2,47
O	—	—	—	24,46

Die Analysen des Pyosins lassen sich mit den Formeln C₆₇H₁₁₀N₂O₁₅ oder C₆₈H₁₁₀N₂O₁₅ in Einklang bringen, das Pyogenin mit der Formel C₆₈H₁₂₈N₂O₁₉. Eine Begründung dieser Annahmen kann erst nach weiteren Untersuchungen des Materials, dessen Beschaffung von Zufälligkeiten abhängt, erfolgen.

Ausser diesen beiden Cerebrosiden kommen noch andere verwandte Körper im Eiter vor. Das von Hoppe-Seyler dargestellte Cerebrin des Eiters kann weder mit dem Pyosin, noch mit dem Pyogenin identisch gewesen sein, da es einen anderen Stickstoffgehalt zeigte. Auch wir erhielten bei der Untersuchung eines frisch entleerten pleuritischen Eiters, dessen Zellen wohl erhalten waren, eine andere stickstoffhaltige und

phosphorfreie Substanz, die durch ihre Eigenschaften und besonders durch die Abspaltung eines reducirenden Körpers ihre Zugehörigkeit zu den Cerebrosiden erwies, die aber bei 230—231° schmolz und 59,63% C und 9,63% H enthielt. Die analysirte Substanz war aschefrei. Bei der Umwandlung der Leukocyten in Eiterzellen erleiden die ursprünglichen chemischen Bestandtheile eine Aenderung. Wir wissen, dass das Nuclein allmähig unter Abspaltung von Phosphorsäure zerfällt, wenn der Eiter stagnirt¹⁾. In gleicher Weise wird auch das Protagon zersetzt und wir haben wahrscheinlich das Pyogenin und vielleicht noch andere im Eiter vorkommende Cerebroside als Umwandlungsproducte der ursprünglichen aus dem Protagon hervorgehenden Cerebroside anzusehen.

Dass diese Cerebroside ursprünglich im Eiter mit Phosphor in Verbindung sind, geht aus den Analysen Hoppe-Seyler's (l. c.) hervor, welcher aus dem ursprünglichen aus Alkohol in Nadeln krystallisirten Körper 2,27 bis 3,44% P_2O_5 , d. i. 0,99 bis 1,50% P fand. Dies entspricht dem Phosphorgehalt des Protagens.

In anderen Eiterarten findet man die Cerebroside schon in freiem Zustand, z. B. krystallisirte der zuletzt erwähnte, bei 230—231° schmelzende Körper schon ohne die Behandlung mit Aetzbaryt fast phosphorfrei in durchsichtigen, makroskopisch erkennbaren Knollen aus der alkoholischen Lösung heraus.

Wenn die Cerebroside auch durch die Fäulniss und verwandte Prozesse Umwandlungen erleiden mögen, so bleibt doch das ihnen eigenthümliche chemische Gefüge erhalten. Wir untersuchten die Adipocire, welche sich nach zehnjährigem Liegen einer Leiche in der Schädelhöhle gebildet hatte, und fanden in derselben ein Cerebrosid, welches bei der Zersetzung mit verdünnter Schwefelsäure einen reducirenden Körper ergab. Auch im Gewebe der Milz findet sich, wie Hoppe-Seyler erwies, ein Cerebrosid vor und wir dürfen nicht zweifeln, dass solche Substanzen noch in vielen thierischen Zellen entdeckt werden.

¹⁾ Kossel, diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 7.

Da man vielleicht den Einwand erheben könnte, dass das Cerebrin der Milz aus den markhaltigen Nervenfasern dieses Organs hervorgeht und dass die Cerebroside des Eiters der Einschmelzung nervenhaltiger Theile ihren Ursprung verdanken, so haben wir zellige Gebilde untersucht, bei denen jede Verunreinigung mit nervösen Elementen ausgeschlossen war — die Spermatozoen. Die Analyse dieser an Karyoplasma reichen, an Cytoplasma armen Gebilde hat noch ein weiteres Interesse. Man kann sich nach ihrer Zusammensetzung eine Vorstellung darüber bilden, welche Substanzen dem Zellkern angehören. Hätten sich die Cerebroside in ihnen reichlicher vorgefunden, als in den kernärmeren Gewebszellen, so hätte man die Cerebroside als Bestandtheile des Zellkerns ansehen müssen.

Wir verarbeiteten die Hoden eines Störs, um eine möglichst grosse Menge der Spermatozoen zu gewinnen. Die Testikel des 24 Stunden vorher getödteten Thieres wurden zerkleinert, mit grossen Mengen Wasser geschüttelt und die milchige Flüssigkeit, welche die Spermatozoen aufgeschwemmt erhält, durch Tücher colirt. Die colirte Flüssigkeit wurde mit wenigen Tropfen Essigsäure versetzt, die Spermatozoen schrumpften und bildeten jetzt einen leicht filtrirbaren Niederschlag, bei dessen mikroskopischer Untersuchung keine anderweitigen Elemente wahrgenommen wurden. Die Untersuchung dieser Elemente wurde ebenso wie die des Eiters vorgenommen und lieferte eine äusserst geringe Menge eines Cerebroside, welches sich völlig wie Cerebrin verhielt und unter Bildung einer reducirenden Substanz zerfiel. Für die Analyse reichte die geringe Menge nicht aus. Dieser Versuch beweist, dass die Cerebroside unabhängig vom Nervenmark vorkommen und dass sie höchst wahrscheinlich aus dem Cytoplasma, nicht aus dem Zellkern hervorgehen.