

# **Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung des Gehirns.**

Von

**Emil Wörner und H. Thierfelder.**

**Mit einer Tafel.**

---

Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.

Der Redaction zugegangen am 12. August 1900.

---

Unter Einhaltung bestimmter Bedingungen (Vermeidung einer Temperatur über 50°, Benutzung 85°-igen Alkohols gelang es verschiedenen Untersuchern (Liebreich, Gangee und Blankenhorn, Baumstark, Ruppel), aus dem Gehirn einen Körper von dem gleichen mikroskopischen Aussehen, den gleichen physikalischen Eigenschaften und annähernd derselben Zusammensetzung zu gewinnen, das sogenannte Protagon. Auch Kossel und Freytag<sup>1)</sup> erhielten unter gewissen Bedingungen Substanzen, deren Zusammensetzung den Angaben dieser Forscher entsprach. Daneben wurden aber von ihnen andere Präparate gewonnen, die trotz grosser Sorgfalt bei der Darstellung zu abweichenden analytischen Ergebnissen führten. Sie schliessen daraus, dass es mehrere Protagone gibt.

Das Protagon ist nach der Angabe der älteren Autoren ein äusserst wenig widerstandsfähiger Körper. Umkrystallisiren aus zu starkem Alkohol oder bei zu hoher Temperatur, längeres Kochen mit Aether bewirken schon Zersetzung. Man hält die Protagone für Verbindungen von Lecithin und phosphorfreien Atomcomplexen (Cerebroside). Beim Kochen mit Barytwasser

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 431.

entstehen die Zerfallsprodukte des Lecithins (Liebreich) und Cerebroside. Diese letzteren kann man auch durch Behandeln einer methylalkoholischen Protagonlösung mit einer methylalkoholischen Barytlösung erhalten (Kossel und Freytag).

Als wir vor einigen Jahren die Untersuchung des Gehirns aufnahmen, war es unsere Absicht, die Zersetzungsprodukte der Cerebroside zu studiren. Um das Ausgangsmaterial zu gewinnen, unternahmen wir zunächst die Darstellung des Protagons. Indem wir uns genau an die Vorschrift hielten, gelang es uns auch ohne Weiteres, Präparate von dem Verhalten und dem mikroskopischen Aussehen (zu Rosetten vereinigte Nadeln) des Protagons zu bekommen. Die Substanz wurde sehr häufig aus 85%igem Alkohol bei 45° umkrystallisirt und schied sich immer wieder in denselben gleichmässigen Formen ab. Die Analysen ergaben aber Werthe, welche sehr erheblich von den für das Protagon gefundenen abwichen. Manche Präparate zeigten einen niedrigeren, andere einen höheren Kohlenstoffgehalt: so lieferten z. B. die Analysen von 5 Präparaten verschiedener Darstellung, die mikroskopisch alle völlig identische und gleichmässige Bilder zeigten, folgende Zahlen:

		C	H	N
1	a	62.44	10.41	3.39
	b	62.43	10.33	3.37
2		62.37	10.53	
3		64.59	10.83	—
4	1. Fraction	64.62	10.87	
	4.	62.71	10.89	—
5		68.97	10.96	
	Protagon nach G. u. B.	66.39	10.69	2.39

Wir machten also dieselben Erfahrungen wie Kossel und Freytag. Da der Weg der weiteren Krystallisation aus 85%igem Alkohol uns aussichtslos erschien, versuchten wir einen benzolhaltigen Alkohol. Das mikroskopische Bild änderte

sich jetzt mit einem Schlag. Von einer Einheitlichkeit war keine Rede mehr. Die aus den Analysenresultaten sich ergebende Schlussfolgerung, dass es sich um ein Gemenge handele, fand also im mikroskopischen Verhalten ihre Bestätigung. Wir beschlossen nun zunächst eine Trennung dieser verschiedenen Körper zu versuchen. Die Schwierigkeiten, welche sich diesen Bemühungen entgegensetzten, waren sehr gross und ihre Ueberwindung ist trotz eines grossen Aufwandes von Zeit und Arbeit bisher nur zum Theil geglückt. Mit benzol- oder auch mit chloroformhaltigem Alkohol gelang es, die Körper in etwas von einander zu trennen, aber über eine gewisse Grenze kam man auch mit diesen Mitteln nicht hinaus. Es ist nöthig mit den Lösungsmitteln häufig zu wechseln und immer wieder neue Mischungen zu verwenden. Die Fähigkeit der hier in Betracht kommenden Stoffe, wechselseitig ihre Löslichkeitsverhältnisse zu ändern, ist eine sehr grosse. Um die Möglichkeit einer Zersetzung auszuschliessen, wurde die Temperatur von 50° niemals überschritten. Indessen haben wir bei unseren Arbeiten keinerlei Anhaltspunkte dafür gewonnen, dass die Behandlung dieser Stoffe mit besonderer Vorsicht geschehen müsse, im Gegentheil die Ueberzeugung, dass die von früheren Autoren behauptete leichte Zersetzlichkeit nicht besteht. Was von diesen für Zersetzungsprodukte gehalten wurde, sind unserer Meinung nach im Gehirn vorgebildete Stoffe, die nur bei Benutzung eines anderen Lösungsmittels oder einer anderen Temperatur sich in anderer Weise abcheiden.

Das mikroskopische Bild ist äusserst wechselnd und trügerisch, man thut gut, sich möglichst wenig auf dasselbe zu verlassen. Die Bestimmung des Schmelzpunktes bildet schon bessere Anhaltspunkte. In letzter Linie kann aber nur die Elementaranalyse entscheiden, von der denn auch in unseren Versuchen in ausgedehntem Maasse Gebrauch gemacht worden ist. Bestimmte Reactionen, die für den einen oder anderen Stoff charakteristisch wären, haben wir bisher leider nicht aufgefunden; nur einer ist im Gegensatz zu allen anderen dadurch ausgezeichnet, dass er in 85° igeem Alkohol bei einer

Temperatur von ungefähr 50° eine eigenthümliche morphologische Veränderung erfährt, die wir als Umlagerung bezeichnen (siehe später). Die Vollständigkeit, mit der diese «Umlagerung» erfolgt, bildet ein gutes Kriterium für die Reinheit der Substanz. Dieser charakteristischen Eigenschaft ist es zu danken, dass wir wenigstens diesen einen Stoff in völliger Reinheit zu isoliren vermochten.

Als Ausgangsmaterial dienten uns zunächst die Ausscheidungen, welche sich bilden, wenn die mit 85%igem Alkohol bei 45° hergestellten Auszüge der zerkleinerten und mit Alkohol entwässerten Gehirne abgekühlt werden; später benutzten wir die weisse Masse, die aus den bei gewöhnlicher Temperatur hergestellten ätherischen Auszügen der in eben angeführter Weise vorbehandelten Gehirne beim Abkühlen auf 0° oder unter 0° sich absetzt. Es wurden ausschliesslich menschliche Gehirne benutzt; diese stammten aus dem pathologischen Institut zu Berlin und der städtischen Irrenanstalt Dalldorf. Wir sind Herrn Professor O. Israel und Herrn Dr. E. Nawratzki für freundliche Besorgung zu bestem Dank verpflichtet.

Eine genaue Beschreibung des von uns eingeschlagenen Trennungsverfahrens zu geben, ist unmöglich; nur im Allgemeinen kann der Weg, den wir zu verbessern und zu vereinfachen hoffen, angedeutet werden. Das Ausgangsmaterial wurde zunächst mit 50% benzol- oder 50% chloroformhaltigem Alkohol bei 45—50° behandelt. Dabei bleibt häufig ein kleiner Theil als geschmolzene Masse ungelöst zurück. Beim Erkalten des Filtrats scheidet sich ein Körper ab, der im Wesentlichen aus mikroskopischen knolligen Gebilden besteht und durch wiederholtes Umkrystallisiren aus denselben Lösungsmitteln gereinigt werden kann. Zur Entfernung der letzten Beimengungen empfiehlt sich mehrfache Behandlung mit 10 oder 20% Chloroform enthaltendem Methylalkohol, in dem diese Substanz schwer löslich ist. Wir kommen auf diesen Körper, dem wir den Namen Cerebron geben; alsbald zurück. Die von der Cerebronabscheidung abfiltrirte Mutterlauge liefert beim Verdunsten einen Krystallbrei feiner mikro-

skopischer Nadeln. Aus diesen Nadeln gelingt es, durch wiederholte Anwendung von benzolhaltigem Alkohol eine Substanz abzuscheiden, die die Eigenschaft hat, beim Erwärmen des Lösungsmittels zu schmelzen, und zu dem oben erwähnten schmelzenden Körper gehört. Diese Substanz ist phosphorfrei, enthält 56,1—56,5% C, fängt beim Erhitzen im Capillarröhrchen über 100° an sich langsam dunkler zu färben und schmilzt bei etwa 270° unter stürmischer Zersetzung und Gasentwicklung. Ob ihre Reindarstellung schon ganz gelungen ist, vermögen wir noch nicht zu sagen. Der nach Abtrennung dieses schmelzenden Stoffes zurückbleibende Rest ist in chloroform- und benzolhaltigem, sowie in reinem Aethyl- und Methylalkohol in der Wärme sehr leicht löslich und scheidet sich meist in zu Rosetten vereinigten lockeren und dichter gestellten Nadeln ab, ganz in der für das Protagon beschriebenen Weise. Trotzdem die verschiedensten Combinationen der Lösungsmittel benutzt wurden, gelang es bis jetzt nicht, aus diesem Gemenge einheitliche Substanzen zu isoliren. Der Schmelzpunkt liegt um 190° herum. Die Kohlenstoffwerthe schwanken zwischen 65 und 69%, die Wasserstoffwerthe zwischen 10 und 11%. Wiederholt stimmten die Kohlenstoff- und Wasserstoffzahlen mit den für das Protagon gefundenen überein. Der Phosphorgehalt betrug im Durchschnitt 0,9%.

Mit den eben erwähnten Körpern scheint aber die Reihe der in unserem Ausgangsmaterial vorhandenen Stoffe nicht erschöpft zu sein.

Wir wollen noch erwähnen, dass jeder von uns die gleichen Substanzen erhielt und wir auch bei Benutzung anderer Trennungsv erfahren stets zu denselben Körpern gelangten.

### Cerebron.

Es ist wie gesagt der einzige bisher in völliger Reinheit gewonnene Körper. Es ist schneeweiss, frei von Phosphor, Schwefel und Asche, von neutraler Reaction, in Wasser unlöslich, auch nicht darin quellend. Es löst sich in der Wärme reichlich in 50% igem Benzolalkohol und scheidet sich aus nicht zu verdünnten Lösungen in charakteristischen Formen

ab (Figur 1<sup>a</sup>). Auch in reinem, sowie in chloroformhaltigem Aethyl- und Methylalkohol löst es sich in der Wärme, um beim Erkalten wieder auszufallen. Die Abscheidungen erfolgen in der Regel in zusammenhängenden Massen, die nicht an der Wandung des Glases haften und sich, ohne auseinander zu reissen, in der Flüssigkeit hin- und herbewegen lassen. Bei genügender Concentration kann auch die ganze Lösung zu einer nicht an der Wandung haftenden lockern Gallerte erstarren. Beim Schütteln zerfällt sie zu grösseren Flöckchen. Die mikroskopischen Bilder, die die Ausscheidungen aus 20% Chloroform enthaltendem Methylalkohol gewähren, sind sehr mannigfach. Man sieht Formen, wie sie der Abbildung in Figur 1 entsprechen, knollige Gebilde mit feinsten kleinen Kügelchen besetzt, ausschliesslich kleine und grössere runde Körper mit glatter Oberfläche. Oft zeigt dasselbe mikroskopische Präparat eine ganze Reihe dieser Bilder neben einander (Figur 2). Fast ganz regelmässig erscheinen neben diesen amorphen Ausscheidungen unzweifelhafte Krystalle, büschelförmig gruppirte Nadeln oder Blättchen (Fig. 2). Auch in heissem Chloroform und heissem Benzol löst sich das Cerebron, die Benzollösung nimmt beim Erkalten das Aussehen und die Consistenz eines dicklichen, schwer flüssigen Kleisters an. In Aceton ist es auch in der Hitze nur wenig löslich. Aus diesem Lösungsmittel, schöner noch aus 20% Chloroform enthaltendem Aceton, scheidet es sich beim Erkalten in schönen grossen Sternen aus, die aus concentrisch zusammengestellten Nadelchen und Blättchen bestehen (Figur 3). Die Nadelchen sind jedenfalls nichts anderes, als von der Seite gesehene Blättchen. Die Lösungen können, ohne dass Zersetzung eintritt, zum Kochen erhitzt werden. Erhitzt man Cerebron im Capillarröhrchen, so beginnt es bei etwa 130° feucht zu werden und sich allmählich mit kleinsten Tröpfchen zu bedecken: erst bei 200° wird es leicht gelblich. Bei langsamem Erhitzen bei 209°, bei schnellem bei 212° schmilzt es zu einer klaren gelblichen Flüssigkeit.

<sup>a</sup> Diese und die anderen Abbildungen sind bei 450facher Vergrösserung gezeichnet.

Die Kohlenwasserstoffbestimmungen wurden in geschlossenem Rohr mit Bleichromat und vorgelegter Kupferspirale ausgeführt, die Stickstoffbestimmungen nach der Kjeldahl'schen Methode, von deren Anwendbarkeit für die vorliegende Substanz wir uns durch Vergleich mit dem Dumas'schen Verfahren überzeugt hatten. Die Präparate waren stets bei 100° getrocknet, sie stammten von 8 verschiedenen Darstellungen. Die 3 letzten (Stickstoff-)Bestimmungen sind für sich aufgeführt, da sich nicht genau feststellen liess, zu welchen Kohlenwasserstoffbestimmungen sie gehören.

1. 0.1294 g Substanz lieferten 0.3262 g CO<sub>2</sub> und 0.1376 g H<sub>2</sub>O, d. i. 68.75% C und 11.82% H.
- 2<sup>a</sup>. 0.1594 g Substanz lieferten 0.4051 g CO<sub>2</sub> und 0.1676 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.32% C und 11.68% H.
- 2<sup>b</sup>. 0.1994 g Substanz lieferten 0.5052 g CO<sub>2</sub> und 0.2026 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.10% C und 11.29% H.
- 3<sup>a</sup>. 0.1084 g Substanz lieferten 0.2750 g CO<sub>2</sub> und 0.1135 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.10% C und 11.63% H.  
0.2272 g Substanz verbrauchten 3.0 ccm.  $\frac{1}{10}$  N.-Säure, d. i. 1.85% N.
- 3<sup>b</sup>. 0.3038 g Substanz lieferten 0.7715 g CO<sub>2</sub> und 0.3194 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.26% C und 11.68% H.
4. 0.1690 g Substanz lieferten 0.4300 g CO<sub>2</sub> und 0.1694 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.39% C und 11.13% H.
5. 0.1801 g Substanz lieferten 0.4559 g CO<sub>2</sub> und 0.1902 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.04% C und 11.73% H.  
0.5578 g Substanz verbrauchten 6.45 ccm.  $\frac{1}{10}$  N.-Säure, d. i. 1.62% N.
6. 0.1607 g Substanz lieferten 0.4070 g CO<sub>2</sub> und 0.1647 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.07% C und 11.39% H.  
0.2427 g Substanz verbrauchten 3.4 ccm.  $\frac{1}{10}$  N.-Säure, d. i. 1.96% N.
7. 0.1801 g Substanz lieferten 0.4564 g CO<sub>2</sub> und 0.1860 g H<sub>2</sub>O, d. i. 69.11% C und 11.48% H.
8. 0.1737 g Substanz lieferten 0.4424 g CO<sub>2</sub>, d. i. 69.46% C.  
0.2153 g Substanz verbrauchten 2.9 ccm.  $\frac{1}{10}$  N.-Säure, d. i. 1.89% N.
9. 0.8592 g Substanz verbrauchten 10.9 ccm.  $\frac{1}{10}$  N.-Säure, d. i. 1.78% N.
10. 0.7743 g Substanz verbrauchten 9.2 ccm.  $\frac{1}{10}$  N.-Säure, d. i. 1.66% N.
11. 0.8752 g Substanz verbrauchten 9.9 ccm.  $\frac{1}{10}$  N.-Säure, d. i. 1.58% N.

Die Resultate dieser Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

	1	2a	2b	3a	3b	4	5	6	7	8	9	10	11	Mittel
Cs	68,75	69,32	69,10	69,10	69,26	69,39	69,04	69,07	69,11	69,16	—	—	—	69,16
H	11,82	11,68	11,29	11,63	11,68	11,13	11,73	11,39	11,48	—	—	—	—	11,54
N	—	—	—	1,85	—	—	1,62	1,96	—	1,89	1,78	1,66	1,58	1,76

In 85<sup>o</sup> wigem Alkohol suspendirt und einer Temperatur von etwa 50<sup>o</sup> ausgesetzt, zeigt das Cerebron ein eigenthümliches und charakteristisches Verhalten, auf das schon oben hingewiesen wurde und das für die Erkennung und Isolirung sehr wesentliche Dienste geleistet hat. Die fein vertheilten Theilchen setzen sich zu Boden und backen in kurzer Zeit zu einer zusammenhängenden Masse zusammen. Jetzt beginnt der Process, den wir als Umlagerung bezeichnet haben. Nimmt man nach einiger Zeit (etwa einer Stunde) eine Probe heraus und betrachtet sie unter dem Mikroskop, so sieht man, wie aus den Knollen nadel- und blättchenförmige Krystalle herausgewachsen sind (Figur 4). Eine später entnommene Probe lässt bei der mikroskopischen Untersuchung überhaupt keine Knollen mehr erkennen, alles ist in feine durcheinander geschobene Blättchen, die häufig als unvollkommen ausgebildete sechsseitige Tafeln mit ganz scharfen Begrenzungslinien erscheinen, verwandelt (Figur 5). Mit blossem Auge sieht man die Flüssigkeit mit prachtvoll glänzenden Flitterchen erfüllt. Der makroskopische Anblick erinnert an Cholesterin.

Versuche, die mit wasserreicherem und wasserärmerem Alkohol und bei verschiedenen Temperaturen angestellt wurden, ergaben, dass die Umlagerung unter den angegebenen Verhältnissen am besten und schnellsten erfolgt. Ein reines Cerebronpräparat wird völlig umgelagert. Löst man die Blättchen, so scheiden sie sich in der Regel amorph wieder aus. Nur aus heissem Aceton erfolgt die Abscheidung regelmässig in deutlichen Krystallen, die der durch Umlagerung erhaltenen entsprechen. Dass man unter den in der Hauptsache amorphen Formen, wie sie aus chloroformhaltigem



Methylalkohol ausfallen, häufig auch einige Krystallisationen findet, wurde schon erwähnt, aber auch eine Abscheidung aus reinem Methylalkohol, die einige Tage gestanden hatte, zeigte sich ganz durchsetzt mit Krystallblättchen, die vielfach die Formen der sechsseitigen Tafel ganz besonders schön zeigten (Figur 6).

Die Umlagerung geht jedenfalls mit einer Aufnahme von Wasser einher, wie aus den Resultaten der Analysen sich ergibt.

1. 0,1522 g völlig ungelagertes Cerebron lieferten 0,3799 g CO<sub>2</sub> und 0,1595 g H<sub>2</sub>O, d. i. 68,08° C und 11,64° H.
2. 0,1030 g völlig ungelagertes Cerebron lieferten 0,2564 g CO<sub>2</sub> und 0,1100 g H<sub>2</sub>O, d. i. 67,90° C und 11,87° H.

	1	2	Mittel
C	68,08	67,90	67,99
H	11,64	11,87	11,75

Beim Zerreiben von Cerebron mit concentrirter Schwefelsäure tritt Gelbfärbung ein, die ungelösten Flocken färben sich allmählich purpurroth. Kocht man Cerebron kurze Zeit mit verdünnter Salzsäure, so zeigt die Flüssigkeit die Eigenschaft, beim Erwärmen Fehling'sche Lösung zu reduciren.

Eine Chloroformlösung von Cerebron vermag Brom zu binden. Beim Verdunsten bleibt das Bromcerebron als amorphe spröde Masse zurück, die in Alkohol sehr viel leichter löslich ist als die ursprüngliche Substanz.

Was die Spaltungsprodukte betrifft, so lässt sich bis jetzt nur Folgendes sagen. Beim Kochen mit Mineralsäuren zerfällt das Cerebron in einen Zucker, einen sauer und einen alkalisch reagirenden Atomcomplex. Der Zucker geht in die wässrige Lösung über, die anderen Spaltungsprodukte sind in Wasser unlöslich und können durch Filtration abgetrennt werden. Sie lassen sich durch Krystallisation, sowie auch durch Fällen ihrer alkoholischen Lösung mit methylalkoholischem Baryt von einander trennen. Von den Säuren (es handelt sich vielleicht um mehrere) ist die eine frei von Stickstoff, in Aether und warmem Alkohol leicht löslich. Beim Erkalten wird die alkoholische Lösung dick, kleisterartig. Die Masse lässt sich schlecht filtriren und nimmt beim Trocknen im Vacuum

wachsartige Consistenz an. Diese Säure addirt kein Brom, dagegen kommt diese Eigenschaft dem alkalisch reagirenden Spaltungsprodukt zu. Dass der Zucker Galactose sei, war nach früheren Untersuchungen zu vermuthen. In der That liess er sich durch die Ueberführung in Schleimsäure und in ein Osazon vom Schmelzpunkt 190° als solche erkennen.

Wir sind mit der Untersuchung der Spaltungsprodukte des Cerebrons, sowie mit der Reindarstellung und Untersuchung der oben kurz angedeuteten weiteren Bestandtheile der Marksubstanz beschäftigt.