

Zur Kenntniss des Lecithins, Kephals und Cerebrins aus Nervensubstanz.

Von
Waldemar Koch.

(From the Hull Physiological Laboratory of the University of Chicago.)

(Der Redaction zugegangen am 5. Juli 1902.)

Die genauere Kenntniss der quantitativen Verhältnisse des Lecithins, Kephals und Cerebrins im Nervensystem unter verschiedenen Bedingungen kann uns möglicher Weise interessante Aufschlüsse über die chemischen Verhältnisse dieses Organs geben. Das Cerebrin lässt sich durch die Menge des abgespaltenen Zuckers bestimmen, eine Methode, die schon Noll¹⁾ für das Protogon ausgearbeitet hat. Die Berechnung des Lecithins aus der gewöhnlichen Phosphorbestimmung ist wegen der Gegenwart sowohl anorganischer Phosphate, als auch des phosphorhaltigen Kephals nicht möglich. Ein anderer charakteristischer Theil des Lecithinmoleküls, welcher sich zur quantitativen Bestimmung eignen würde, ist die Cholingruppe. Zwar ist das Cholin manchmal im freien Zustande in der Nervensubstanz aufgefunden worden, doch muss man wohl annehmen, dass dieser Befund im Wesentlichen auf Zersetzungsprocesse bei der Extraction zurückzuführen sei. Da nun das Cholin drei an Stickstoff gebundene Methylgruppen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 370.

enthält, so lässt sich die Methode von Herzig und Meyer¹⁾ zur Bestimmung solcher Gruppen durch Abspaltung des Methyljodids bei hoher Temperatur nach Behandlung der Substanz mit Jodwasserstoffsäure in diesem Falle gut verwenden. Da die Herstellung des Kephaling und Cerebrins und besonders des Lecithins mir zuerst ziemliche Schwierigkeiten bereitete, werde ich im Folgenden erst einfache Darstellungsmethoden dieser Körper beschreiben und dann zugleich mit den Analysen der gereinigten Substanz die Resultate der Herzig-Meyerschen Methylbestimmung angeben.

Ein Kilo feingemahlene Schafsgehirne werden durch achtstündiges Kochen mit einem Kilo Aceton von Wasser und den Extractivstoffen befreit. Das Aceton wird kalt filtrirt und hinterlässt bei der Verdunstung eine dem gewöhnlichen Fleischextract ähnliche Masse, welche sich vollkommen in Wasser löst und 1,75 Procent der feuchten Nervensubstanz beträgt. Die durch gelinde Hitze (50° C.) vom anhaftenden Aceton befreite Gehirnschubstanz wird nun zweimal, jedesmal drei Tage lang mit 700 ccm. kaltem Aether ausgezogen, die Aetherfiltrate vereinigt und in einem hohen Gefässe der langsamen Verdunstung überlassen. Ein feiner weisser Niederschlag unbekannter Natur (wahrscheinlich Protogon) setzt sich ab, von welchem die Aetherlösung, nachdem sie ungefähr bis zu einem Viertel ihres Volumens verdunstet, vorsichtig mit der Pipette abgehoben wird.

Darstellung des Kephaling. Der Zusatz von 1,5 Kilo Alkohol gibt mit dieser Aetherlösung einen weissen Niederschlag von Kephaling. Dieses Kephaling wird zur weiteren Reinigung fünfmal mit kochendem Alkohol ausgezogen, in Aether gelöst, mit Aceton niedergeschlagen, wieder in Aether gelöst und die trübe Lösung in einem hohen verschlossenen Gefäss eine Woche lang stehen gelassen. Die klare Lösung wird vorsichtig decantirt, verdunstet, das harzartige Kephaling zweimal aus heissem Essigester umkrystallisirt und in einem Vacuum-

¹⁾ Monatshefte für Chemie, Bd. XV, S. 613.

exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute 1,0 g. Die Analyse gibt folgende Zahlen:

- I. 0,2469 g Substanz lieferten 0,5388 g CO_2 und 0,2159 g H_2O , d. i. 59,5 C und 9,8 H.
 II. 0,4150 g Substanz verbrauchten 5,2 ccm n_{10} Säure, d. i. 1,75 N.
 III. 0,9644 g Substanz lieferten 0,1330 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, d. i. 3,85 P.
 IV. 0,7235 g Substanz lieferten 0,0990 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, d. i. 3,82 P.
 V. 0,3488 g Substanz lieferten 0,0945 g AgJ , d. i. 1,73 CH_3 .
 VI. 0,490 g Substanz lieferten 0,1312 g AgJ , d. i. 1,71 CH_3 .

	Berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{NPO}_3$	Gefunden						Thudichum's Analysen ¹⁾	Zuelzer's Analysen ²⁾
		I	II	III	IV	V	VI		
C	60,06	59,5	—	—	—	—	—	60,0	60,2
H	9,77	9,8	—	—	—	—	—	9,38	9,8
N	1,67	—	1,75	—	—	—	—	1,68	3,8
P	3,70	—	—	3,85	3,82	—	—	4,27	2,6
1CH_3	1,78	—	—	—	—	1,73	1,71	—	—

Die obige theoretische Formel würde einem Dioxystearylmonomethyllecithin entsprechen. Der niedrige Kohlenstoffgehalt lässt sich nur durch die Gegenwart einer grösseren Menge Sauerstoffs erklären, da das Kephalin keine niedrigen Fettsäuren, keinen Schwefel, keinen reducirenden Zucker und keine Metalle wie Natrium oder Calcium enthält. Kephalin ist sehr hygroskopisch, und könnte der Kohlenstoffgehalt durch die Gegenwart von Wasser erklärt werden, wenn die Wasserstoffbestimmungen nicht auch so ungemein niedrig ausfielen. Die geringe Menge an Stickstoff gebundenen Methyls ist nicht auf eine Verunreinigung mit Lecithin zurückzuführen, da alles Methyljodid schon bei 240°C . auf einmal abgespalten wird, was nach Herzig und Meyer auf nur eine Gruppe hindeutet. Im Lecithin wird das Methyljodid immer in zwei Stufen bei 240°C . und 300°C . abgespalten, wie später ersichtlich. Mit Baryumhydrat verseift, lieferte das Kephalin einen Körper, dessen

1) Thudichum, Die chemische Constitution des Gehirns des Menschen und der Thiere, 1901, S. 132.

2) Zuelzer, Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 262.

Platinsalz annähernd die Zusammensetzung eines Monomethyloxäthylamins besass, doch war die Menge zur weiteren Reinigung nicht genügend. Thudichum, mit dessen Zahlen meine Analysen am besten übereinstimmen, erwähnt die mögliche Gegenwart eines solchen Monomethyloxäthylamins, obgleich er behauptet, aus seinem Kephalin Cholin isolirt zu haben. Sollte sich mein Kephalin bei der weiteren Untersuchung wirklich als ein Dioxystearylmonomethyllecithin herausstellen, so könnte man sich seine Bildung aus dem gewöhnlichen Dioleyllecithin durch mässige Oxydation und gleichzeitige Abspaltung zweier Methylgruppen erklären.

Eigenschaften des Kephalins: Kephalin ist eine harzige, sehr hygroskopische Substanz von brauner Farbe. Es löst sich in kaltem Aether, Eisessig, Chloroform und Schwefelkohlenstoff. In Alkohol ist es weder heiss noch kalt löslich, doch erhöht der Zusatz einer geringen Menge Salzsäure die Löslichkeit ganz bedeutend. In Aceton ist das Kephalin ebenfalls unlöslich, aus heissem Essigester kann es durch Abkühlen ausgeschieden werden. Mit Wasser quillt es auf und bildet eine Emulsion gerade wie Lecithin.

Darstellung des Lecithins: Die Alkoholätherlösung, aus welcher das Kephalin zu Anfang niedergeschlagen ist, wird verdunstet. Der Rückstand wird in Aether gelöst und von Cholesterin durch Aceton befreit, das Lecithin in einer grösseren Menge kalten Alkohols gelöst und die filtrirte Lösung verdunstet. Wenn dieses Lecithin sich in kaltem Alkohol oder Aether vollkommen klar löst, kann es durch Umkrystallisiren aus Essigester weiter gereinigt werden und gibt dann, nachdem es über Schwefelsäure getrocknet ist, folgende Analysenzahlen. Die Ausbeute beträgt bis zu 5 g.

- I. 0,2420 g Substanz lieferten 0,5683 g CO_2 und 0,2247 g H_2O , d. i. 64,03 C, 10,4 H.
- II. 0,942 g Substanz verbrauchten 12,1 cem. n. 1,6 Säure, d. i. 1,8 N.
- III. 0,677 g Substanz lieferten 0,0919 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, d. i. 3,79 P.
- IV. 0,815 g Substanz lieferten 0,1109 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, d. i. 3,80 P.
- V. 0,3975 g Substanz lieferten 0,3156 g AgJ, d. i. 5,08 CH_3 .
- VI. 0,235 g Substanz lieferten 0,1853 g AgJ, d. i. 5,04 CH_3 .

Das Methyljodid wird in den Analysen V und VI bei 240° C. und 300° C. abgespalten. Legt man den Phosphorgehalt von 3.8% der Rechnung zu Grunde, so ergibt sich für den Stickstoff und die daran gebundenen drei Methylgruppen folgende gute Uebereinstimmung:

Berechnet für 3.8 Phosphor		Gefunden		
		II	V	VI
1 N	1.72	1.8	—	—
3 CH ₃	5.51	—	5.08	5.04

Besonders befriedigend ist die Uebereinstimmung der Methylbestimmungen unter einander.

Mein Lecithin gibt, mit Baryumhydrat verseift, eine gute Ausbeute an Cholin, welches als Platindoppelsalz identificirt wurde. Die Fettsäuren bestehen aus ungefähr 85% Stearin oder Palmitinsäure, nach Kossel's¹⁾ Methode bestimmt. Eine Schwefelkohlenstofflösung meines Lecithins entfärbt Jod, enthält also auch Oelsäure. Am wahrscheinlichsten handelt es sich um eine Mischung der drei möglichen Lecithine.

Darstellung des Cerebrins: Zur Darstellung des Cerebrins wird die mit kaltem Aether von Lecithin, Kephalin und Cholesterin theilweise befreite Gehirnssubstanz mit heissem Alkohol mehrere Male gekocht. Man kann auch frische Schafsgehirne direkt mit Alkohol auskochen, wenn man nur Cerebrin gewinnen will. Der sich aus dem auf 0° C. abgekühlten Alkohol absetzende Niederschlag wird aus Eisessig zwei bis drei Mal umkrystallisirt und ist dann vollkommen phosphorfrei. Zucker spaltet sich bei dieser Behandlung nicht ab, da in der Eisessigmutterlauge nie Zucker vorhanden ist und das Cerebrin selbst ausserdem mit 1%iger Salzsäure grössere Mengen Zucker abspaltet. Manchmal ist dem Cerebrin aus Eisessig noch etwas Cholesterin beigemischt, dieses kann durch kalten Aether entfernt werden. Das phosphorfreie Cerebrin wird dann noch mehrere Male aus Essigester umkrystallisirt

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 431.

und schmilzt bei 192° C. constant. Ueber Schwefelsäure getrocknet gibt es folgende Analysenzahlen:

- I. 0.1821 g Substanz lieferten 0.4589 g CO₂ und 0.1926 g H₂O, d. i. 68.73 C. 11.83 H.
- II. 0.541 g Substanz verbrauchten 6.5 ccm. n₁₀ Säure, d. i. 1.68 N.
- III. 0.507 g Substanz verbrauchten 5.74 ccm. n₁₀ Säure, d. i. 1.59 N.
- IV. 0.8304 g Substanz mit HNO₃ nach Kossel lieferten 0.6007 g Stearinsäure, d. i. 72.3 Stearinsäure.
- V. 0.2349 g Substanz lieferten 0.00 g AgJ, d. i. 0.0 CH₃.
- VI. 0.500 g Substanz lieferten 0.00 g Mg₂P₂O₇, d. i. 0.0 P.

	Thierfelder's 1) Analyse	Gefunden					
		I	II	III	IV	V	VI
C	69.16	68.73	—	—	—	—	—
H	11.54	11.83	—	—	—	—	—
N	1.76	—	1.68	1.59	—	—	—
Stearinsäure	—	—	—	—	72.3	—	—
P	0.0	—	—	—	—	0.0	—
CH ₃	—	—	—	—	—	—	0.0

Der Körper ist also Cerebrin und unterscheidet sich von dem aus Menschengehirn gewonnenen Cerebron durch seinen Schmelzpunkt 192° C. (Cerebron 212° C.).

Eigenschaften des Cerebrins: Cerebrin ist eine weisse mikroskopisch krystallinische Substanz, welche sich in heissem Alkohol, Essigester, Benzol oder Eisessig löst. In kalten Lösungsmitteln ist es durchweg unlöslich. In Aether ist Cerebrin weder heiss noch kalt löslich. Mit Chloroform bildet es eine Art Emulsion.

Da das Cerebrin kein Methyl am Stickstoff enthält, wird es die Lecithinbestimmung nicht beeinflussen, das Kephalin spaltet sein Methyl unterhalb 240° C. ab, bei welcher Temperatur auch das erste Methyl des Lecithins abgespalten wird. Aus den bei 300° C. abgespaltenen zwei übrigen Methylgruppen lässt sich dann das Lecithin berechnen, alles übrige Methyl gehört dann dem Kephalin. Meine Arbeitsmethode berück-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 549.

sichtigt nicht besonders die dem Cerebrin nahe verwandten Körper, wie das Kerasin, doch ist es anzunehmen, dass Körper, welche chemisch so nahe verwandt sind, sich in ihrer physiologischen Bedeutung nicht viel unterscheiden. Das Gleiche gilt auch von den verschiedenen Lecithinen.

Das Protagon braucht weiter nicht berücksichtigt zu werden, da ich die Theile, aus denen es aufgebaut, direkt bestimme.

Die mit der hier angedeuteten Methode ausgeführten quantitativen Analysen der Gehirnssubstanz werden in einer späteren Abhandlung veröffentlicht.