

Über das Cerebron.

II. Mitteilung.

Von

H. Thierfelder.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Berlin.
Der Redaktion zugegangen am 1. April 1905.)

Vor kurzem konnte ich mitteilen, daß bei der hydrolytischen Zersetzung des Cerebrons Cerebronsäure, Sphingosin und Galaktose auftreten, mußte es aber unentschieden lassen, ob diese drei Substanzen die einzigen Spaltungsmittel sind.¹⁾ Es ließen sich in geringer Menge noch andere Körper isolieren, welche aber möglicherweise als sekundäre Produkte aufzufassen waren. Die Bildung solcher sekundären Spaltungsprodukte schien bei der langen Zeit, welche bei Benutzung von verdünnter Schwefelsäure zur vollständigen Hydrolyse nötig war, leicht erklärlich.

Inzwischen habe ich in dem schwefelsäurehaltigen Methylalkohol ein sehr viel besseres Spaltungsmittel gefunden. Der Vorteil besteht darin, daß das Cerebron sich beim Erwärmen leicht in ihm löst, und die Folge davon ist, daß die Spaltung schon in wenigen Stunden völlig beendet ist. Bei der Untersuchung des Reaktionsgemisches ergab sich, daß das Cerebron glatt in die drei genannten Substanzen zerfällt. Die Galaktose wird vollständig in das Methylgalaktosid und die Cerebronsäure zum Teil in den Methylester umgewandelt. Die Spaltungsprodukte lassen sich gut voneinander trennen und annähernd quantitativ bestimmen.

Es möge zunächst das Verfahren beschrieben werden. 3 g Cerebron werden in einem Rundkolben mit etwa 110—150 ccm 10% konzentrierte Schwefelsäure enthaltendem Methylalkohol

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 21.

übergossen und am Rückflußkühler auf dem Wasserbad erhitzt. Wenn die Temperatur eine gewisse Höhe erreicht hat, tritt vorübergehend eine ziemlich heftige Reaktion mit starkem Schäumen ein. Die Substanz löst sich völlig auf. Nach drei- bis vierstündigem Erhitzen,¹⁾ während dessen die Flüssigkeit nur einen leicht gelblichen Farbenton annimmt, läßt man erkalten und zwar bis unter 0° durch Einstellen in eine Kältemischung. Die dabei erfolgende schneeweiße Abscheidung wird abgesaugt und mit schwefelsäurehaltigem Methylalkohol ausgewaschen.

A. Rückstand. Er wird mit warmem Äther behandelt, die ätherische Lösung von der sich absetzenden Schwefelsäure abgossen, filtriert und verdunstet, der Rückstand abermals in wasserfreiem Äther aufgenommen und dieses Verfahren wiederholt, bis die Schwefelsäure völlig entfernt ist. Die so gewonnene Substanz ist frei von Stickstoff und Schwefel, aber nicht einheitlich, wie sich aus der mikroskopischen Prüfung der beim Erkalten der warmen alkoholischen Lösung erfolgenden Kristallisation ergab. Es zeigte sich, daß ein Teil nur bei saurer Reaktion in ätherische Lösung überzuführen war, der andere auch bei alkalischer. Die Mengenverhältnisse dieser beiden Anteile schwankten in den einzelnen Versuchen. Zur Trennung wird die ätherische Lösung mit alkoholischer Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt, der entstehende Niederschlag abfiltriert und mit viel Äther ausgewaschen.

a) Niederschlag. Er wird in Wasser suspendiert und nach Zufügen von Schwefelsäure mit Äther geschüttelt. Es tritt völlige Lösung ein. Der Ätherrückstand kristallisiert aus warmem 96%igen Alkohol in den charakteristischen Formen der Cerebronsäure. Die getrockneten Kristalle zeigen auch den Schmelzpunkt der Cerebronsäure.

b) Filtrat. Es wird mit Wasser geschüttelt und darauf verdunstet. Der Rückstand kristallisiert aus warmem 96%igen Alkohol in langen, geraden, zu schönen lockern Sternen vereinigten Nadeln. Die Substanz ist nicht hygroskopisch, sie schmilzt langsam erhitzt bei 65°. Für die Analyse dienen

¹⁾ Vermutlich genügt zur völligen Spaltung schon eine sehr viel kürzere Zeit. Ich habe darüber keine Versuche angestellt.

zwei Präparate verschiedener Darstellung. Das Trocknen geschah über Schwefelsäure.

1. 0,1472 g lieferten 0,4091 g CO_2 und 0,1680 g H_2O ,
das ist 75,80% C und 12,68% H.

2. 0,1431 g lieferten 0,3983 g CO_2 und 0,1595 g H_2O ,
das ist 75,91% C und 12,38% H.

1.	2.	Mittel:	Berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{49}\text{O}_3 \cdot \text{CH}_3$:
C 75,80%	75,91%	75,85%	75,73%
H 12,68%	12,38%	12,53%	12,62%

Es liegt also, wie zu erwarten war, der Cerebronsäuremethylester vor. Durch Verseifen mit Natriumalkoholat (halbstündiges Erhitzen mit Alkohol, in dem 2,5% Na aufgelöst war, auf dem Wasserbad) läßt sich der Ester in die Cerebronsäure überführen. Die isolierte Substanz stimmte in der Kristallform mit dieser Säure überein, zeigte fast den gleichen Schmelzpunkt (100—101°, während Cerebronsäure an demselben Thermometer bei 99—100° schmolz) und gab bei der Verbrennung 75,08% C und 12,49% H (berechnet 75,38% C und 12,56% H).

In den Versuchen, in denen der bei alkalischer Reaktion in Ather lösliche Teil sehr gering war, gelang die Isolierung von reinem Ester nicht.

B. Filtrat. Es enthält das Sphingosin als Sulfat und die Galaktose als Methylgalaktosid, was aus dem fehlenden Reduktionsvermögen der Flüssigkeit zu schließen ist. Um die freie Galaktose zu gewinnen, wird die klare Lösung mit Hilfe von etwas schwefelsäurehaltigem Methylalkohol in einen Kolben übergeführt, nach Zufügen von etwa 300 ccm Wasser etwa 5 Stunden auf bezw. in dem Wasserbade erhitzt und darauf in einer Glasschale nach weiterem Wasserzusatz bis auf etwa 120 ccm eingedampft. Aus der noch immer ganz klaren Flüssigkeit scheidet sich beim Erkalten auf der Oberfläche in der Mitte und ringförmig an der Wandung das Sulfat als fast weiße, ganz leicht rötlich gefärbte Masse ab. Sie läßt sich im Zusammenhang herausheben und wird beim Verreiben und Dekantieren mit Wasser allmählich flockig. Sie wird auf einem Filter gesammelt, durch das schon die Flüssigkeit und das Dekantationswasser gelaufen ist.

a) Niederschlag. Er wird mit Wasser ausgewaschen, bis die Schwefelsäurereaktion im Filtrat ganz schwach ausfällt. Ein völliges Aufhören wird nicht erreicht, da das Sulfat offenbar spurweise in Wasser löslich ist. Die Masse wird im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, fein zerrieben und mit Äther extrahiert. Dabei geht eine geringe Menge Substanz in Lösung, welche zumeist wohl aus Cerebronsäure bzw. Cerebronsäureester besteht, aber auch Spuren von Sulfat enthält und die bei den quantitativen Bestimmungen jenen Substanzen zugerechnet worden ist. Jetzt wird in heißem absoluten Alkohol gelöst, filtriert, eingeeengt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet. Der Rückstand ist rein weiß, nur an der Oberfläche etwas rötlich gefärbt und besteht aus reinem Sphingosinsulfat.

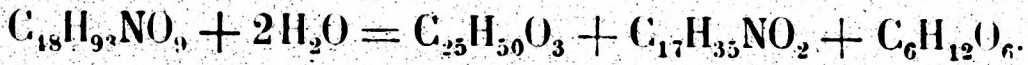
b) Filtrat. Es enthält nur Galaktose und zwar in freiem Zustand.

Unter Benützung des geschilderten Verfahrens wurden zwei Versuche quantitativ durchgeführt und zwar wurde der aus Cerebronsäure und Cerebronsäuremethylester bestehende Ätherrückstand und ebenso das Sphingosinsulfat gewogen, die Galaktose mit Fehlingscher Lösung titriert. Den erhaltenen Werten kann, wie sich aus dem Gesagten ergibt, nur eine annähernde Genauigkeit beigemessen werden.

Aus je 3 g Cerebron wurden erhalten:

	Cerebronsäure + Methylester	Sphingosinsulfat	Galaktose
Versuch 1	1,5102 g	1,2244 g	0,67 g
Versuch 2	1,3758 g	1,2579 g	0,64 g
Mittel	1,4430 g	1,2411 g	0,655 g
	48,10%	41,37%	21,83%

Diese Resultate und die für das Cerebron gefundene prozentische Zusammensetzung stimmen am besten zu der Annahme, daß dem Cerebron die Formel $C_{18}H_{93}NO_9$ zukommt und daß es bei der hydrolytischen Spaltung unter Aufnahme von 2 Molekülen Wasser in je 1 Molekül Cerebronsäure, Sphingosin und Galaktose zerfällt:



Die Formel $C_{18}H_{93}NO_9$ verlangt: Für Cerebron gefundene Mittelwerte:

C 69,65%	69,19%
H 11,24%	11,35%
N 1,70%	1,76%

Bei einer Spaltung im Sinne obiger Gleichung liefert Cerebron:		Erhalten wurden im Mittel:
Cerebronsäure	48,13%	48,10% Cerebronsäure
bezw. Cerebronsäuremethylester	49,82%	+ Methylester
Sphingosin	34,46%	
bezw. Sphingosinsulfat	40,39%	41,37% Sphingosinsulfat
Galaktose	21,77%	21,83% Galaktose.