

Über das Cerebron.

III. Mitteilung.

Von

F. Kitagawa und H. Thierfelder.

Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Berlin.
(Der Redaktion zugegangen am 21. September 1906.)

Neues Darstellungsverfahren des Cerebrons.

Die Gewinnung des Cerebrons nach der früher von E. Wörner und dem einen von uns¹⁾ angegebenen Methode ist sehr umständlich und zeitraubend. Eine wesentlich schneller zum Ziele führende Art der Darstellung ist die folgende: Die auf das feinste zerriebene und mit Aceton entwässerte Gehirnmasse (Menschengehirne) wird mit Äther geschüttelt und zwar wiederholt mit neuen Mengen, bis der Äther sich nicht mehr färbt und nur noch wenig aufnimmt. Das beim Abkühlen der ätherischen Filtrate auf 0° sich Abscheidende wird dem Gehirnbrei wieder zugefügt und dieser nun so oft bei etwa 45—50° mit 85%igem Alkohol ausgezogen, als in den Filtraten beim Abkühlen noch nennenswerte Niederschläge erfolgen. Die abfiltrierten Abscheidungen werden vereinigt und mehrmals mit Äther geschüttelt. Die auf diese Weise erhaltene schneeweiße Masse, das sogenannte Protagon, lösen wir nach Verdunsten des anhaftenden Äthers in 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol²⁾ und zwar 100 Teile in etwa 500 Teilen. Die Lösung erfolgt sehr leicht, schon bei gelindem Erwärmen, und vollständig. Die Flüssigkeit wird von Papierfasern und anderen Verunreinigungen durch Filtration befreit und in einem verschlossenen Kolben bei Zimmer-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 542.

²⁾ Die Brauchbarkeit dieser Mischung für die Zwecke der Cerebronisolierung ist von Dr. E. Wörner gefunden worden.

temperatur stehen gelassen. Bis zum nächsten Tage hat sich an der Oberfläche eine harte weiße Kruste abgeschieden. Man filtriert, kühlt das Filtrat ab und krystallisiert die dabei ausfallende und abfiltrierte Masse noch einige Male aus 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol um, bis die Abscheidung wieder in Form einer harten weißen Kruste an der Oberfläche der klaren Flüssigkeit erfolgt. Die Mutterlaugen werden im Vakuum bis zur Trockene verdunstet und die Rückstände aus demselben Lösungsmittel umkrystallisiert. Dabei lassen sich noch weitere Mengen der gleichen charakteristischen Abscheidungen erhalten. Die Massen werden vereinigt und in der etwa 25—30fachen Menge 20% Chloroform enthaltenden Methylalkohols heiß gelöst. Der beim Erkalten sich bildende Niederschlag ist zum Teil krystallinisch, zum Teil amorph und stellt schon ziemlich reines Cerebron dar. Es enthält aber noch kleine Mengen von Phosphor, zu deren Entfernung wir mit Vorteil ein Zinkreagens (eine Auflösung von Zinkhydroxyd in Methylalkohol, die durch Einleiten von Ammoniak in das in Methylalkohol suspendierte Zinkhydroxyd und Zufügen von Ammoniumacetat bewirkt wird) benützt haben. Man fügt zu einer heißen Lösung des Cerebrons in 10% Chloroform enthaltendem Methylalkohol eine heiße Lösung dieses Reagens, kocht, bis die zunächst entstandene Trübung sich zu einer flockigen Masse zusammengeballt hat, und filtriert. Der Filtrerrückstand ist sehr phosphorreich, schon eine minimale Menge gibt nach dem Veraschen mit Soda und Salpeter eine starke Reaktion mit molybdän-saurem Ammoniak. Der aus dem klaren Filtrat beim Erkalten sich abscheidende Niederschlag wird abfiltriert und wieder in 10% Chloroform enthaltendem Methylalkohol gelöst. Dabei bleibt noch eine geringe Menge einer zink- und phosphorhaltigen Substanz ungelöst zurück. Aus dem erkaltenden Filtrat fällt das Cerebron hauptsächlich in Form glitzernder Krystallblättchen aus. Mikroskopisch sieht man nur verhältnismäßig wenig amorphe Ausscheidungen. Abgesaugt und im Vakuum getrocknet stellt dieses krystallisierte Cerebron eine zusammenhängende verfilzte, silberweiß glänzende und glitzernde Masse von elastischer Beschaffenheit dar.

Spezifisches Drehungsvermögen des Cerebrons.

Das Cerebron dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts und zwar beträgt für etwa 5%ige Lösungen in 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol $[\alpha]_D$ im Mittel von 3 Bestimmungen $+ 7,6^\circ$.

1. $c = 4,583$	$t = 50^\circ$	$[\alpha]_D = + 6,3^\circ$
2. $c = 5,057$	$t = 50^\circ$	$[\alpha]_D = + 8,4^\circ$
3. $c = 4,572$	$t = 50^\circ$	$[\alpha]_D = + 8,03^\circ$

Sphingosin.

Unter diesem Namen hat Thudichum schon vor vielen Jahren eine Substanz beschrieben, die er als Spaltungsprodukt seines Phrenosins erhalten hatte. Ohne Kenntnis der Angaben von Thudichum ist von dem einen von uns¹⁾ eine Base ganz derselben Zusammensetzung $C_{17}H_{35}NO_2$ unter den Produkten des mit wässriger Schwefelsäure gespaltenen Cerebrons aufgefunden. Die genau übereinstimmenden analytischen Werte, welche zwei Präparate verschiedener Darstellung und ein drittes durch fünfmaliges Umkrystallisieren des einen der beiden erhaltenes ergaben, im Verein mit dem mikroskopischen Bild und dem übereinstimmenden Verhalten verschiedener Präparate beim Erhitzen im Schmelzröhrchen, ließen einen Zweifel darüber, daß es sich hier um ein Gemenge handeln könne, nicht aufkommen. Inzwischen sind uns doch Bedenken aufgestiegen, ob hier in der Tat eine einheitliche Substanz vorliegt, allerdings bis jetzt nur auf Grund von weiterer Untersuchung der Base, welche durch Spaltung des Cerebrons mittels methylalkoholischer Schwefelsäure²⁾ erhalten worden ist. Diese Base verhielt sich zunächst ebenso wie die durch Spaltung in wässriger Lösung gewonnene, indem auch sie aus ihrer alkoholischen Lösung auf Zusatz von alkoholischer Schwefelsäure als Sulfat ausfiel. Die nähere Prüfung ergab aber, daß dieses Basensulfat ein Gemenge ist und mindestens aus zwei verschiedenen Substanzen besteht, von denen die eine viel leichter in Alkohol und besonders in

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

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 366.

heißem Alkohol löslich ist als die andere. Das leichter lösliche Sulfat scheidet sich aus heißer alkoholischer Lösung in mehr knolligen, drusigen Formen ab, das schwerer lösliche in spießigen Krystallen, die vielfach mit kleinen Nadeln besetzt sind und auch in kleinen zu Rosetten vereinigten Nadelchen, d. h. in Formen, wie sie auch bei dem durch Spaltung in wässriger Lösung erhaltenen Sulfat beobachtet worden waren. Auch beim Erhitzen im Schmelzröhrchen zeigt das schwerlösliche ein ganz ähnliches Verhalten wie das früher beschriebene. Die Analyse ergab aber etwas abweichende Werte. Indessen ist uns eine Reindarstellung der Sulfate jedenfalls noch nicht völlig gelungen. Eine Fortsetzung der Untersuchung wird hoffentlich zum Ziele führen und auch darüber Gewißheit verschaffen, ob in der Tat im Cerebron zwei oder noch mehr Basen vorhanden sind oder ob vielleicht unter dem Einfluß des benutzten Spaltungsmittels ein Teil der ursprünglich einheitlichen Base eine Umwandlung erfahren hat.

Während also die Trennung der Basen in Form ihrer Sulfate noch nicht in befriedigender Weise hat ausgeführt werden können, ist es uns geglückt, eine derselben als Chlorid zu isolieren. Dieses schön krystallisierende salzsaure Salz entspricht dem in Alkohol leichter löslichen Teil des Sulfatgemenges und es ist deshalb zweckmäßig, zu seiner Gewinnung so zu verfahren, daß zunächst die Sulfate hergestellt und fraktioniert werden und aus der leichter löslichen Fraktion die Base wieder gewonnen wird. Fügt man nun zu ihrer Lösung in wenig Alkohol tropfenweise, und unter Rühren und Reiben der Wandung mit einem Glasstabe, alkoholische Salzsäure, so beginnen sich alsbald oder nach einiger Zeit glitzernde Blättchen abzuscheiden, deren Bildung bei weiterem Zusatz der Salzsäure bis zur schwach alkalischen oder neutralen Reaktion zunimmt. Aus der Mutterlauge läßt sich durch Zusatz von Äther und Anwendung von Kälte noch mehr gewinnen.

Benutzt man nicht die alkoholische Lösung der aus dem leichter löslichen Sulfat zurückgewonnenen Base, sondern die alkoholische Lösung des ursprünglichen Basengemenges, so gelingt es nicht immer, direkt beim Zufügen von alkoholischer

Salzsäure die Abscheidung zu erhalten, wohl aber auf nachträglichen Zusatz von viel Äther zu der neutralisierten und abgekühlten Flüssigkeit. In allen Fällen ist die Ausbeute eine sehr geringe, aus 10 g Cerebron wurden nur etwa 0,4 g des Salzes erhalten.

Das Chlorid ist in Wasser und Äther unlöslich: es löst sich in warmem Alkohol, um beim Erkalten auszukristallisieren. Doch ist es auch in kaltem Alkohol nicht unlöslich, so daß es zweckmäßig ist, zum Umkristallisieren wenig Alkohol zu verwenden und die Flüssigkeit stark abzukühlen. Es kristallisiert in großen glashellen, durcheinander geschobenen Tafeln mit geraden Begrenzungslinien und vielfach vollkommen rechten Winkeln. Abgesaugt und im Vakuum getrocknet erscheint die Substanz als zusammenhängende, stark silberglänzende Masse, welche sich nur schwer fein zerreiben läßt. Mikroskopisch und makroskopisch erinnert sie sehr an Cholesterin. Der Schmelzpunkt liegt bei langsamem Erhitzen bei 132—133°. Ihre alkoholische Lösung addiert Brom.

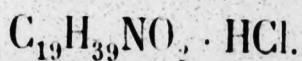
Bei der Analyse der im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz wurden folgende Werte erhalten:

1. 0,1225 g lieferten 0,2934 g CO₂ und 0,1248 g H₂O, das ist 65,32% C und 11,32% H.
2. 0,1186 g lieferten 0,2850 g CO₂ und 0,1245 g H₂O, das ist 65,53% C und 11,74% H.
3. 0,1146 g lieferten 0,2767 g CO₂ und 0,1176 g H₂O, das ist 65,85% C und 11,40% H.
4. 0,1930 g lieferten 0,4623 g CO₂ und 0,1980 g H₂O, das ist 65,33% C und 11,40% H.
5. 0,1173 g lieferten 0,2824 g CO₂, das ist 65,66% C.¹⁾
6. 0,1993 g lieferten 7,2 ccm N bei 18° und 750 mm B., das ist 4,12% N.
7. 0,1415 g verbrauchten bei der Bestimmung nach Kjeldahl 4,20 ccm n₁₀-Säure, das ist 4,16% N.
8. 0,1189 g lieferten 0,0489 g AgCl, das ist 10,16% Cl.
9. 0,1225 » » 0,0528 » » » » 10,65% »
10. 0,1186 » » 0,0503 » » » » 10,48% »
11. 0,1146 » » 0,0470 » » » » 10,13% »
12. 0,1390 » » 0,0572 » » » » 10,17% »
13. 0,1376 » » 0,0559 » » » » 10,03% »

¹⁾ H-Bestimmung verunglückte.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.
C	65.32	65.53	65.85	65.33	65.66	—	—	—	—	—	—	—	—
H	11.32	11.74	11.40	11.40	—	—	—	—	—	—	—	—	—
N	—	—	—	—	—	4.12	4.16	—	—	—	—	—	—
Cl	—	—	—	—	—	—	—	10.16	10.65	10.48	10.13	10.17	10.03

Die gefundenen Werte stimmen am besten zu der Formel:



	Berechnet:	Gefunden im Mittel:
C	65,18%	65,54%
H	11,52%	11,46%
N	4,01%	4,14%
Cl	10,13%	10,27%

Um aus dem Chlorid die freie Base zu erhalten, wurde seine alkoholische Lösung im Scheidetrichter mit alkoholischer Alkalilauge alkalisch gemacht und darauf mit viel Wasser, Natronlauge und Äther versetzt. Der auf Zusatz von Wasser entstehende Niederschlag löste sich sofort beim Schütteln mit Äther auf. Nachdem die ätherische Lösung nochmals mit wässriger Natronlauge geschüttelt worden war, wurde sie filtriert und eingeeengt. Aus der konzentrierten ätherischen Lösung schied sich die Base in großen Krystallen ab, die nun zur Reinigung nochmals in viel warmem Äther gelöst wurden. Beim ruhigen Stehen scheiden sie sich allmählich in großen zentimeterlangen, dem bloßen Auge als Nadeln erscheinende Krystalle ab. Bei der mikroskopischen Untersuchung erweisen sie sich als lange, schmale Blättchen, welche auch fächerförmig zusammenliegen können. Abgesaugt stellt die Substanz eine lockere, leicht pulverisierbare Masse dar. Sie ist in Wasser unlöslich, in kaltem Äther schwer löslich, in Alkohol leicht löslich. Aus der alkoholischen Lösung scheidet sich auf Zusatz von alkoholischer Salzsäure das Chlorid in seinen charakteristischen Krystallen, auf Zusatz von alkoholischer Schwefelsäure das Sulfat ab. Der Schmelzpunkt liegt bei 87°. Beim Erhitzen im Röhrchen schmilzt die Substanz zunächst und verkohlt dann unter Bildung weißer Dämpfe und unter einem eigentümlichen, an verbrennendes Fett erinnernden Geruch. Die alkoholische Lösung addiert Brom.

Die Analyse der im Vakuum getrockneten Substanz ergab folgende Werte:

0,1231 g lieferten 0,3276 g CO_2 und 0,1405 g H_2O ,
das ist 72,58% C und 12,68% H.

Die für die freie Base erhaltenen Zahlen stimmen also für die aus der Analyse des salzsauren Salzes abgeleitete Formel.

Berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{NO}_2$:	Gefunden:
C 72,76%	72,58%
H 12,54%	12,68%

Aus der freien Base wurde wieder das salzsaure Salz hergestellt, welches in jeder Beziehung mit dem oben beschriebenen übereinstimmte.

0,1351 g lieferten 0,3238 g CO_2 und 0,1418 g H_2O ,
das ist 65,37% C und 11,66% H.

Berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$:	Gefunden:
C 65,18%	65,37%
H 11,52%	11,66%

Über die Beziehungen dieser Base zum Sphingosin können wir zur Zeit aus den oben angeführten Gründen nichts aussagen, unterlassen es deshalb auch, ihr einen Namen zu geben.

Wir teilen diese Resultate unserer gemeinsamen Untersuchung trotz ihrer Unfertigkeit mit, weil Herr Dr. Kitagawa sich wegen der Rückkehr in seine Heimat nicht mehr an der Fortsetzung beteiligen kann.

Die Mittel für diese Untersuchung wurden uns aus der Gräfin Bose-Stiftung von der medizinischen Fakultät der Universität Berlin zur Verfügung gestellt.