

# Untersuchungen über Vögel- und Fischgehirne.

Von

Dr. med. **Alfred Argiris.**

---

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. August 1908.)

---

Da bisher nichts darüber bekannt zu sein scheint, ob die im Nervengewebe von Säugetieren vorkommenden Cerebroside sich auch in dem Nervengewebe von Vögeln und Fischen finden, habe ich auf Veranlassung von Herrn Professor Thierfelder dahingehende Untersuchungen angestellt und berichte im folgenden über die Resultate.

## Vogelgehirne.

Die Gehirne von Hühnern und Enten wurden alsbald nach dem Schlachten herauspräpariert, in ein großes Gefäß mit Aceton geworfen und darin aufbewahrt, bis eine Menge von 5800 g (Gewicht der frischen Gehirns substanz) beisammen war. Nun wurde das Aceton abfiltriert, die Gehirnmasse durch ein feines Sieb getrieben, wiederholt mit neuem Aceton behandelt und nach Erschöpfung mit diesem Extraktionsmittel mit reichlicher Menge Äther geschüttelt, und zwar so oft (siebenmal), bis eine neue Portion sich nicht mehr gelb färbte und beim Verdunsten keinen oder einen nur ganz geringfügigen Rückstand hinterließ. Der von Äther befreite Brei wurde nun so oft bei 40—45° mit 85%igem Alkohol ausgezogen, als in dem Filtrate beim Abkühlen noch nennenswerte Niederschläge erfolgten. Die abfiltrierten Ausscheidungen wurden vereinigt und mehrmals mit Äther geschüttelt. Sie stellten nun eine schneeweiße Masse dar, welche sich leicht trocknen und pulverisieren ließ. Die Menge des so gewonnenen Protagonen betrug 70 g. Die Verarbeitung auf Cerebron geschah in der von Kitagawa und

Thierfelder<sup>1)</sup> angegebenen Weise. Das Protagon wurde in der fünffachen Menge 75 % Chloroform enthaltenden Methylalkohols unter gelindem Erwärmen gelöst, die Lösung filtriert und in einem verschlossenen Kolben stehen gelassen. Bis zum nächsten Tage schied sich an der Oberfläche eine Kruste ab, welche abfiltriert und wiederholt aus 20 % Chloroform enthaltendem Methylalkohol umkrystallisiert wurde. Die so gewonnene phosphorfreie Substanz, deren Menge 4,5 g betrug, zeigte alle Eigenschaften des Cerebrons. Aus 20 % Chloroform enthaltendem Methylalkohol schied sie sich amorph in knolligen Gebilden und runden Körpern mit glatter Oberfläche aus, aus 20 % Chloroform enthaltendem Aceton in zu Sternen gruppierten Nadelchen. In 85 %igem Alkohol suspendiert und einer Temperatur von 45° ausgesetzt, gingen die amorphen knolligen Gebilde in Blättchen, welche häufig als unvollkommen ausgebildete sechsseitige Tafeln erscheinen, über. Das Verhalten zu Lösungsmitteln, die Form der Abscheidung und der Übergang der amorphen Form in die krystallinische, alles stimmte überein mit den Angaben, die für das Cerebron aus Menschen- und Rindergehirn gemacht worden sind. Beim Erhitzen im Kapillarröhrchen zeigten sich bei 193° Tröpfchen an der Wandung, bei 195° war alles geschmolzen. Für das Cerebron wird allerdings der Schmelzpunkt 212° angegeben, doch wurde er häufig auch für Präparate aus Menschengehirn niedriger gefunden. Es hängt das wohl zum Teil von der Schnelligkeit des Erhitzens ab, vielleicht auch davon, ob das Präparat krystallisiert oder amorph ist oder ein Gemisch beider Formen darstellt. Bei der Analyse der im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz wurden folgende Werte erhalten:

1. 0,0815 g Substanz lieferten 0,2070 g CO<sub>2</sub> und 0,0890 g H<sub>2</sub>O  
= 69,27% C und 12,13% H.
2. 0,0773 g Substanz lieferten 0,1956 g CO<sub>2</sub> und 0,0856 g H<sub>2</sub>O  
= 69,01% C und 12,30% H.
3. 0,2472 g Substanz verbrauchten bei der Bestimmung nach Kjeldahl 3,0 ccm n/10-Säure = 1,70% N.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 286 (1906).

	1.	2.	3.	Mittel	Mittlere Zusammensetzung des Cerebrons aus Menschengehirnen
C	69,27	69,01	—	69,14	69,19
H	12,13	12,30	—	12,21	11,35
N	—	—	1,70	1,70	1,76

Beim Kochen mit Schwefelsäure wurde Zucker abgespalten, dessen Menge, titrimetrisch bestimmt und auf Galaktose berechnet, 21,75 % betrug. Aus Cerebrön aus menschlichen Gehirnen wurden im Mittel 21,83 % Galaktose erhalten.

Da die kleine Menge Cereborn, welche nach diesen Versuchen noch übrig war, nicht genügte, um den Zucker in einer für seine genaue Charakterisierung hinreichenden Quantität zu isolieren, so versuchte ich, ihn aus den Produkten der Hydrolyse des Protavons, welches zur Darstellung des Cerebrons gedient hatte, aber natürlich noch beträchtliche Mengen dieser Substanz enthielt, zu gewinnen. Zu dem Zweck wurde eine Menge von 13 g mit 7 %iger Schwefelsäure 3 Stunden im kochenden Wasserbad erhitzt, die Flüssigkeit nach dem Erkalten filtriert, mit Phosphorwolframsäure ausgefällt\*) und das Filtrat nach Entfernung der Phosphorwolframsäure durch Baryt und des überschüssigen Baryts durch Kohlensäure eingeeengt. Der erhaltene Sirup, welcher, wie aus seinem starken Reduktionsvermögen hervorging, reichliche Mengen von Zucker enthielt, ließ sich nicht zum Krystallisieren bringen; ich habe ihn des-

\*) Der Niederschlag wurde mit Barytwasser zersetzt, das Filtrat mit Kohlensäure behandelt, filtriert und nach Ansäuren mit Salzsäure eingedampft. Die alkoholische Lösung des Rückstandes wurde mit einer alkoholischen Cadmiumchloridlösung gefällt, der abfiltrierte Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat vom Schwefelcadmium eingeeengt. Aus der alkoholischen Lösung des Rückstandes schied sich auf Zusatz von alkoholischem Platinchlorid ein orangefarbener Niederschlag aus, welcher nach dem Umkrystallisieren und Trocknen 31,59 % Pt gab (0,1602 g lieferten 0,0506 g Pt). Es handelte sich also um Cholinplatinchlorid, welches 31,64 % Pt enthält. Ich erwähne das nur, weil meines Wissens Cholin bisher aus Vogelgehirnen noch nicht dargestellt worden ist.

halb in Salpetersäure (sp. G. 1,15) gelöst, die Lösung auf dem Wasserbade eingedampft und die sich dabei ausscheidenden Krystalle nach mehrfachem Umkrystallisieren auf den Schmelzpunkt geprüft. Er lag bei 212°. Es handelte sich also um Schleimsäure, die bei 213° schmilzt.

Wenn auch diese Feststellung zur Charakterisierung des Zuckers genügt, so habe ich es doch nicht unterlassen wollen, die Galaktose in Substanz darzustellen. Ich habe deshalb, um ein weniger kompliziertes Ausgangsmaterial zu verwenden und dadurch für die Isolierung der Spaltungsprodukte günstigere Verhältnisse zu schaffen, aus dem Protagon zuerst das Cerebrin der älteren Autoren dargestellt (2 stündiges Kochen des Protagons mit konzentriertem Barytwasser, Filtrieren, Behandeln des in Wasser suspendierten Filtrerrückstandes mit Kohlensäure, Filtrieren, wiederholte Extraktion des Filtrerrückstandes mit heißem Alkohol und Vereinigung der beim Abkühlen der heißen Filtrate sich bildenden Ausscheidungen) und dies Cerebrosidgemenge,\*) in dem sich auch das Cerebron befinden muß, der Spaltung unterworfen.

Die Hydrolyse und weitere Verarbeitung geschah in der früher von Thierfelder<sup>1)</sup> angegebenen Weise. Je 3 g wurden mit 30 ccm 2%iger Schwefelsäure zu einem dünnen Brei zerrieben und in zugeschmolzener Glasröhre im Ölbad fünf Stunden auf 115—125° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Inhalt der Röhren filtriert, das vereinigte Filtrat sorgfältig von aller Schwefelsäure befreit und eingeengt. Auf Zusatz von kleinen Mengen Alkohol begann alsbald eine Krystallisation, und nach einiger Zeit war der ganze Sirup in eine Krystallmasse verwandelt. Die Krystalle wurden abgesaugt und unter Benutzung von Tierkohle durch Umkrystallisieren farblos erhalten. Sie schmeckten süß und gaben bei der Analyse auf Galaktose stimmende Werte:

---

\*) Es fiel auf, wie leicht man zu einer phosphorfreien Substanz gelangte. Bei der gleichen Behandlung von Protagon aus Menschen- oder Rindergehirn ist es bekanntlich schwierig, vollständig phosphorfreie Präparate zu gewinnen.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XIV, S. 209 (1890).

0,1042 g Substanz lieferten 0,1520 g CO<sub>2</sub> und 0,063 g H<sub>2</sub>O

Gefunden:	Berechnet für C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> :
C = 39,78	40,00
H = 6,72	6,67

Die Substanz schmolz bei 164°, der Schmelzpunkt der Galaktose liegt bei 168°. Das nach der Vorschrift von E. Fischer dargestellte und gereinigte Osazon schmolz bei raschem Erhitzen bei 191° in Übereinstimmung mit den von E. Fischer für das Phenylgalaktosazon gemachten Angaben.

Der Zucker des Cerebrosids aus Vogelgehirn ist also ebenfalls Galaktose.

---

Ich habe mich dann weiter mit der Untersuchung der bei der Spaltung des Cerebrosidgemenges erhaltenen, in Wasser unlöslichen Masse beschäftigt und zunächst versucht, den basischen Anteil zu isolieren. Die abfiltrierte Substanz wurde zur vollständigen Abspaltung und Entfernung des Kohlehydrats noch dreimal und zwar 1/2, 1 und 2 Stunden mit 33% iger Schwefelsäure in kochendem Wasserbad erhitzt, dann durch wiederholtes Verreiben mit Wasser und Filtrieren von der Schwefelsäure befreit und schließlich im Vakuum getrocknet. Sie wurde nun mit absolutem Alkohol zum feinen Brei zerrieben, mit alkoholischer Natronlauge bis zur starkalkalischen Reaktion versetzt, abgesaugt und nochmals derselben Behandlung unterworfen. Die vereinigten Filtrate versetzte ich im Scheidetrichter mit einer großen Menge Wasser, wobei eine starke Trübung entstand, und schüttelte nach weiterem Zusatz von Natronlauge mit Äther aus. Die abgetrennte, ätherische Lösung wurde mehrmals mit Wasser geschüttelt, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand löste sich bei vorsichtigem Zusatz von Äther wieder auf. Die Lösung trübte sich bei Zusatz von mehr Äther. Sie blieb in verschlossenem Kolben bis zum nächsten Tage stehen, wurde nun von den Ausscheidungen (welche nicht alkalisch reagierten und sich als in Äther fast unlöslich erwiesen) abfiltriert und etwas weiter eingeeengt. Bei einer gewissen Konzentration fielen schöne, glitzernde Krystalle aus, die abgesaugt und getrocknet eine perlmutterglänzende, weiße Masse darstellten. Aus den

eingeeengten Mutterlaugen wurden noch weitere Krystallisationen erhalten. Mikroskopisch erschienen sie als Blättchen, welche nach der einen Seite spitz zulaufen, nach der andern durch eine gerade oder eine geknickte Linie begrenzt sind. Sie liegen teils einzeln, teils fächerförmig übereinander geschoben und sind auch verschieden groß. Aus den Mutterlaugen wurden größere Formen erhalten. Daneben sieht man büschelförmig angeordnete Nadeln, welche aber vermutlich nur weniger gut ausgebildete Blättchen darstellen.

Sie lösen sich in kaltem Äther nicht sehr leicht, leicht in Alkohol. Die Lösungen reagieren stark alkalisch. Beim Erhitzen im Röhrchen begann die Substanz bei  $70^{\circ}$  zusammenzusintern, bei  $81^{\circ}$  fing sie an zu schmelzen und bei  $81\text{--}83^{\circ}$  war sie zu einer klaren, ganz schwach gelben Flüssigkeit geschmolzen.

Die erhaltene Menge war nur sehr gering, doch konnte ich zwei Kohlenwasserstoffbestimmungen ausführen, von denen sich die erste auf die zuerst ausgefallenen Krystalle, die zweite auf die aus der Mutterlauge gewonnenen bezieht.

1. 0,0577 g Substanz lieferten 0,1520 g  $\text{CO}_2$  und 0,0670 g  $\text{H}_2\text{O}$   
= 71,84% C und 12,90% H.

2. 0,0435 g Substanz lieferten 0,1148 g  $\text{CO}_2$  und 0,0514 g  $\text{H}_2\text{O}$   
= 71,97% C und 13,13% H.

	1	2	Mittel	Sphingosin $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{NO}_2$ verlangt
C	71,84	71,97	71,90	71,51
H	12,90	13,13	13,01	12,37

Eine Stickstoffbestimmung konnte aus Mangel an Substanz noch nicht ausgeführt werden und auch die Kohlenwasserstoffwerte bedürfen trotz ihrer guten Übereinstimmung einer weiteren Sicherstellung, da die Analysen mit sehr kleinen Mengen ausgeführt werden mußten.

Vermutlich handelt es sich um Sphingosin, welches Thudichum in krystallisiertem Zustande erhalten hat. Die Base bildet auch ein in Alkohol sehr schwer lösliches Sulfat, was ebenfalls mit dem Sphingosin stimmt.

## Fischgehirne.

800 g Gehirnmasse, in frischem Zustand den Köpfen von *Gadus morrhua* (Kabeljau) und *Gadus aeglefinus* (Schellfisch) entnommen, wurde in Aceton gesammelt. Nach ihrer Zerkleinerung und Pressen durch ein feines Haarsieb wurde sie mehrmals mit Aceton behandelt (aus den eingeengten Acetonauszügen schied sich beim Einengen in reichlicher Menge Cholesterin aus, welches nach dem Umkrystallisieren bei  $145^{\circ}$  schmolz) und darauf durch wiederholtes, jedesmal stundenlang fortgesetztes Schütteln mit großen Mengen Äther völlig mit diesem Lösungsmittel erschöpft. Der nach dem letzten Schütteln abfiltrierte Äther war völlig farblos und hinterließ beim Verdunsten einen nur ganz geringen Rückstand.

A. Die vereinigten Ätherauszüge wurden im Vakuum eingeengt und mit Aceton gefällt. Der wachsartige, dunkelgefärbte Niederschlag löste sich bis auf eine geringe, feine, weiße Trübung, welche durch Zentrifugieren abgetrennt werden konnte, in Äther. Die klare, ätherische Lösung wurde wieder eingeengt und mit Aceton gefällt. Der jetzt erhaltene Niederschlag löste sich klar in Äther. Der beim Verdunsten im Vakuum hinterbleibende Rückstand ließ sich durch Alkohol in einen in Alkohol löslichen und aus der eingeengten alkoholischen Lösung durch Aceton fällbaren und einen in Alkohol unlöslichen, in Äther löslichen und aus der ätherischen Lösung durch Aceton fällbaren Teil trennen. Der Ätherauszug verhielt sich also ebenso wie der bei gleicher Vorbehandlung aus Menschen- und Rindergehirnen gewonnene, aus dem das in Alkohol lösliche Lecithin und das in Alkohol unlösliche Jecorin erhalten werden.

B. Die mit Äther erschöpfte Gehirnmasse wurde längere Zeit mit 85%igem Alkohol bei  $45^{\circ}$  behandelt und die alkoholische Lösung warm filtriert. Das Filtrat blieb beim Abkühlen auf Zimmertemperatur und auch auf  $0^{\circ}$  völlig klar und schied erst nach dem Einengen im Vakuum und neuem Abkühlen einen braunen, wachsartigen Niederschlag ab. Das Verhalten war also ein ganz anderes, als es von den Säugetier- und Vogelgehirnen bekannt ist. Bei diesen trübt sich der

Alkoholauszug beim Abkühlen sofort und setzt beim Erkalten auf 0° einen reichlichen, weißen, krystallinischen Niederschlag, das sogenannte Protagon, ab. Während weiterhin das Protagon in Äther unlöslich ist und nach dem Kochen mit Salzsäure reichlich Fehlingsche Lösung reduziert, erwies sich die aus den eingeengten Alkoholauszügen der Fischgehirne abgetrennte, braune, wachsartige Substanz als in Äther leicht löslich und reduzierte nach der hydrolytischen Spaltung nur ganz schwach, so schwach, daß das Reduktionsvermögen bei den ersten Versuchen sogar ganz übersehen wurde.

Die Untersuchungen über Vogel- und Fischgehirne, an deren Fortsetzung ich leider durch meinen Fortgang von Berlin verhindert bin, werden im Laboratorium von Professor Thierfelder weitergeführt.

---