

Über das Cerebron.

VI. Mitteilung.

Von

Karl Thomas und H. Thierfelder.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen.)
(Der Redaktion zugegangen am 29. März 1912.)

1. Nachdem durch vorangehende Untersuchungen¹⁾ die Anwesenheit von 2 alkoholischen Hydroxylgruppen im Sphingosin festgestellt worden war, haben wir es der Acetylierung unterworfen. Diese vollzieht sich sehr leicht. Beim Zusammenbringen mit überschüssigem Acetylchlorid löst sich das Sphingosin unter Erwärmen auf. Nach Eindampfen der Lösung auf dem Wasserbad bis zum Verschwinden des Geruchs nach Acetylchlorid und Zufügung von Äther erfolgt alsbald die Abscheidung von Krystallen. Abgesaugt stellen sie eine weiße Masse dar, welche in Alkohol sehr leicht löslich ist, sich aber aus ihm umkrystallisieren läßt.

Die Krystalle scheiden sich aus Äther in Form von beiderseits spitzen dünnen Nadeln ab und schmelzen gegen 100°. Ein ganz scharfer Schmelzpunkt ist nicht vorhanden. Bei 98° wurde die Substanz weich, bei 99 bis 100° war sie geschmolzen.

Eine Analyse der im Vakuum getrockneten Substanz ergab folgende Werte.

0,1648 g lieferten 0,4073 g CO₂ und 0,1517 g H₂O, das ist 67,40% C und 10,23% H.

Gefunden:	Berechnet für	Berechnet für
	C ₁₇ H ₃₂ NO ₂ · (CH ₃ CO) ₃ :	C ₁₇ H ₃₃ NO ₂ · (CH ₃ CO) ₂ :
C 67,40%	67,15%	68,1%
H 10,23%	9,98%	10,8%

¹⁾ F. Kitagawa und H. Thierfelder, Diese Zeitschrift, Bd. 49, S. 286, O. Riesser und H. Thierfelder, S. 508.

Nach diesem Ergebnisse war es schon wahrscheinlich, daß es sich um ein Sphingosintriacetat handelte. Zur Sicherstellung haben wir eine Acetylbestimmung ausgeführt.

Für diese Bestimmung benützten wir den von Wenzel¹⁾ angegebenen Apparat, bewirkten aber die Verseifung nicht mit Schwefelsäure, sondern mit Kaliummethylat und destillierten die gebildete Essigsäure nach Zufügen von Phosphorsäure im Vakuum ab. Wir haben dieses Verfahren, mit dem sich eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verbinden läßt, zuerst mit Acetamid ausprobiert und sind im einzelnen folgendermaßen verfahren.

Die abgewogene Substanz wurde im Kjeldahl-Kolben mit 30 ccm n-Kaliummethylat (der Methylalkohol war über Kalk destilliert) und 30 ccm Wasser am schräg aufsteigenden Kühler unter Wasserstoffdurchleitung (der Wasserstoff ging durch Kaliumpermanganatlösung und konzentrierte Schwefelsäure) 3 Stunden erhitzt, während dessen ein mit dem Kühler verbundenes Glasrohr in starke Schwefelsäure eintauchte. Nach Beendigung der Verseifung wurde längere Zeit Wasserstoff durchgeleitet und dann nach Entfernung der Schwefelsäurevorlage und Anfügung des Wenzelschen „Dampfwäschers“, des absteigenden Kühlers und der mit gemessenem titriertem Barytwasser gefüllten Druckflasche und nach Einbringen von 10 ccm sirupöser Phosphorsäure (spez. Gew. 1,7) in den Verseifungskolben im Vakuum destilliert. Nach 6maligem Ersatz des überdestillierten Wassers durch neues sahen wir die Destillation als beendet an und titrierten das Barytwasser unter Benutzung von Phenolphthalein bis zur bleibenden Farblosigkeit. Dadurch ließ sich der Fehler, welcher durch geringe Mengen von Kohlensäure verursacht war, ausschalten. Da sich in blinden Vorversuchen ergeben hatte, daß bei 3stündigem Kochen von 30 ccm n-Kaliummethylat und 30 ccm Wasser eine Säuremenge entsprechend 1,80 ccm n_{10} -Säure gebildet wird (es ist auch Formaldehydgeruch deutlich wahrnehmbar), so wurde diese Menge bei der Ausrechnung in Abzug gebracht.

In dem Destillationskolben führten wir nach Einbringen der vorgelegten Schwefelsäure die Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl in üblicher Weise durch.

Eine Bestimmung von Acetyl und Stickstoff im Acetamid nach diesem Verfahren ergab folgendes Resultat. 0,07526 g (= 0,001276 Mol.) verbrauchten

1. für die Acetylbestimmung in 2 Versuchen 13,47 und 14,06 ccm n_{10} -Lauge und nach Abzug der Korrektur (1,80 ccm) 11,67 und 12,26 ccm, d. h. 0,91 und 0,96 Molekül Acetyl auf 1 Molekül Acetamid,

2. für die Stickstoffbestimmung in 3 Versuchen 15,0, 15,15 und 15,15 ccm H_2SO_4 (1 ccm H_2SO_4 = 1,167 mg N), d. h. im Mittel 23,55% statt der berechneten 23,73% N.

¹⁾ Monatsh. f. Ch., Bd. 18, S. 659, und Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsbestimmung, 2. Aufl., S. 518.

0,1858 g (= 0,0004517 Mol.) des acetylierten Sphingosins verbrauchten für die Acetylbestimmung 16,22 ccm und nach Abzug der Korrektur 14,42 ccm n_{10} -Lauge, und für die Stickstoffbestimmung 5,30 ccm Säure (1 ccm = 1,167 mg N).

Es sind also gefunden worden auf 1 Mol. Sphingosin 3,19 Mol. Acetyl oder 33,38% Acetyl (statt der für Sphingosintriacetat berechneten 31,38%) und 3,33% N (statt des für Sphingosintriacetat berechneten 3,41%). Es sind also bei der Acetylierung 3 Acetylgruppen in das Sphingosin eingetreten.

Zu demselben Triacetat gelangten wir, als wir die Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat bewirkten. Sphingosin¹⁾ wurde $\frac{1}{2}$ Stunde mit der gleichen Menge Natriumacetat und der vierfachen Menge Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler in schwachem Sieden erhalten und die Reaktionsmasse nach dem Abkühlen mit Wasser in einen mit Natronlauge gefüllten Scheidetrichter gegossen. Beim Schütteln mit Äther ging das Reaktionsprodukt in diesen über und schied sich beim Verdunsten der durch Schütteln mit Wasser gereinigten ätherischen Lösung in schönen farblosen Krystallen ab.

Durch diese Feststellungen ist das Sphingosin als ungesättigter zweiwertiger Aminoalkohol charakterisiert.

2. In der Arbeit von Kitagawa und dem einen von uns²⁾ war von einem in heißem Alkohol schwer löslichen Basensulfat die Rede, welches bei der Spaltung des Cerebrons in methylalkoholischer Schwefelsäure neben einem leicht löslichen, inzwischen als Dimethylsphingosinsulfat erkannten, auftritt. Es war uns damals nicht möglich, dieses Sulfat zu charakterisieren. Während im mikroskopischen Bild und im Verhalten beim Schmelzen große Ähnlichkeit mit dem bei der Spaltung des Cerebrons mit wässriger Schwefelsäure³⁾ gebildeten Sphingosin-

¹⁾ Bei dieser Gelegenheit beobachteten wir, daß das Sphingosin aus konzentrierter ätherischer Lösung sich in schönen weißen Krystallen abscheidet, und zwar in verschieden langen, vielfach mit der Längsseite reihenweise zusammenliegenden nadelförmigen Gebilden.

²⁾ a. a. O.

³⁾ In letzter Zeit bewirken wir diese nicht mehr durch Erhitzen in der Druckflasche unter Schütteln, sondern durch Kochen auf dem Sandbade am Rückflußkühler.

sulfat bestand, ergaben die Analysen¹⁾ abweichende Werte. Wir teilen eine Reihe von ihnen mit:

	CO ₂	H ₂ O	BaSO ₄	C	H	H ₂ SO ₄
g	g	g	g	%	%	%
1. 0,1485 lieferten	0,3359	0,1468,		das ist 61,69	10,98	—
2. 0,1879 „	0,4256	0,1851 und	0,0658,	„ „ 61,77	11,02	14,71
3. 0,1875 „	0,4255	0,1852 „	0,0655,	„ „ 61,89	11,05	14,67
4. 0,1485 „	0,3367	0,1481 „	0,0533,	„ „ 61,84	11,16	15,08
5. 0,1473 „	0,3346	0,1456 „	0,0523,	„ „ 61,95	11,06	14,42
6. 0,1815 „	0,4100	0,1782 „	0,0641,	„ „ 61,61	10,98	14,84
7. 0,1639 „	0,3721	0,1660 „	0,0580,	„ „ 61,92	11,33	14,86
8. 0,1471 „	0,3342	0,1467	—	„ „ 61,96	11,15	—
9. 0,2142 „	7,4 ccm N bei 18°	u. 758 mm B,		das ist 3,98%	N.	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C	61,69	61,77	61,89	61,84	61,95	61,61	61,92	61,96	—
H	10,98	11,02	11,05	11,16	11,06	10,98	11,33	11,15	—
N	—	—	—	—	—	—	—	—	3,98
H ₂ SO ₄	—	14,71	14,67	15,08	14,42	14,84	14,86	—	—

Gefunden
im Mittel

Berechnet
für das Sulfat des

Sphingosins, Methylsphingosins, Dimethylsphingosins

C	61,83	61,08	62,07	62,98
H	11,12	10,78	10,92	11,05
N	3,98	4,19	4,02	3,87
H ₂ SO ₄	14,76	14,67	14,08	13,54

Auf Grund der Kohlenstoffwerte dachten wir an die Möglichkeit, daß ein Monomethylsphingosin vorläge. Die Überführung der Substanz in das Acetylderivat hat aber ergeben, daß es sich um Sphingosin handelt, dem vermutlich kleine Mengen von Dimethylsphingosin beigemischt sind.

Die Acetylierung wurde mit Natriumacetat und Essigsäureanhydrid in der oben beschriebenen Weise ausgeführt. Das isolierte Produkt verhielt sich ebenso wie das aus reinem Sphingosin gewonnene; es schmolz aber etwas höher, bei 100

¹⁾ Die Analysen 2—7 sind von Herrn Kitagawa ausgeführt nach der Methode von Dennstedt, die andern nach der alten Methode.

bis 102°. Der Schmelzpunkt einer Mischung beider lag genau in der Mitte bei 97—100°. Um jeden Zweifel auszuschließen, haben wir noch eine Acetylbestimmung ausgeführt.

0,2113 g (= 0,000514 Mol.) verbrauchten 16,13 ccm und nach Abzug der Korrektur 14,33 ⁿ/₁₀-Lauge. Es sind also gefunden worden auf 1 Mol. der Substanz 2,75 Mol. Acetyl oder 28,75% Acetyl (statt der für Sphingosintriacetat berechneten 31,38%): Für die Stickstoffbestimmung wurden 6,18 ccm H₂SO₄ (1 ccm = 1,167 mg N) verbraucht, entsprechend 3,41% N (berechnet 3,41%). Die vorliegende Base ist also Sphingosin. Ein Monomethylsphingosin hat sich bisher nicht nachweisen lassen.¹⁾

¹⁾ Das in diesen Tagen in Deutschland ausgegebene Märzheft des Journ. of Biolog. Chemistry enthält eine kurze Mitteilung von P. A. Levene u. W. A. Jacobs. Sie kommen ebenfalls zu dem Ergebnis, das Sphingosin als ungesättigten Aminoalkohol aufzufassen und das Dimethylsphingosin als Kunstprodukt anzusehen.

Ich habe in meiner letzten Mitteilung über Sphingosin mir seine weitere Erforschung zwar nicht ausdrücklich vorbehalten, aber nur deswegen nicht, weil es mir selbstverständlich zu sein schien, daß man sie mir überlasse. Das Sphingosin ist allerdings von Thudichum entdeckt; es war aber halb vergessen und ist erst durch meine Arbeiten wieder an das Licht gezogen worden. So glaube ich ein Recht auf seine weitere Untersuchung zu besitzen. Äußere Umstände tragen die Schuld, daß seit meiner letzten speziell diese Base berührenden Veröffentlichung einige Jahre vergangen sind. Ich richte an Herrn Levene die Bitte, die weitere Bearbeitung des Sphingosins und seiner Derivate, sowie der Cerebrosidgruppe meinem Laboratorium zu überlassen. H. Thierfelder.