

# Untersuchungen über die Cerebroside des Gehirns.

## III. Mitteilung.

Von

H. Thierfelder.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen.)  
(Der Redaktion zugegangen am 11. April 1913.)

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> wurde über Versuche berichtet, aus dem mit Hilfe des Barytacetoneverfahrens gewonnenen Cerebrosidegemenge reine Cerebroside darzustellen. Es gelang neben dem Cerebron ein zweites Cerebroside zu erhalten, welches in seinen Löslichkeitsverhältnissen, seinem makroskopischen und mikroskopischen Verhalten durchaus an das Kerasin erinnerte, das zuerst von Thudichum und dann auch von Parkus sowie von Kossel und Freytag aus dem Gehirn dargestellt und beschrieben worden ist. Bei der Analyse lieferten aber zwei Präparate, welche sich aus verschiedenen Lösungsmitteln in ganz gleicher und charakteristischer Weise abschieden und auch bei der mikroskopischen Betrachtung keine Unterschiede zeigten, verschiedene Werte.

Ehe ich die Untersuchung dieses zweiten Cerebroside wieder aufnahm, erschien es mir nötig, nochmals zu prüfen, ob auch in der Tat das Barytverfahren ganz indifferent sei. Krystallisiertes Cerebron wurde zwar nach einstündigem Erhitzen mit Barytwasser zu 90,4% wiedergewonnen und hatte bei dieser Behandlung sein Krystallisationsvermögen bewahrt; auch hatte Protagon nach der gleichen Behandlung mit Barytwasser nichts von seinem Zuckergehalt eingebüßt,<sup>2)</sup> aber das aus dem Barytacetonecerebrosidegemenge isolierte Cerebron verhielt sich insofern

<sup>1)</sup> H. Loening und H. Thierfelder, Diese Zeitschrift, Bd. 74, S. 282 (1911).

<sup>2)</sup> H. Loening und H. Thierfelder, Diese Zeitschrift, Bd. 77, S. 202 (1912).

anders, als das nach einem weniger eingreifenden Verfahren dargestellte, als es erst nach längerem Kochen mit einer zur Lösung unzureichenden Menge Methylalkohol krystallisierte und nicht schon sofort.

Ich habe daher zwei Cerebronpräparate, von denen das eine mittels Baryt, das andere in alter Weise hergestellt war, genau mit einander verglichen. Diese Versuche finden sich auf S. 37ff. beschrieben. Sie führten zu dem Resultat, daß eine irgendwie erhebliche Veränderung durch das Barytverfahren nicht eintritt.

Nach diesem Ergebnis habe ich mich wieder der Bearbeitung des nach dem Barytverfahren dargestellten Cerebrosidgemenges zugewandt, da es wohl erlaubt ist, die für das Cerebron gemachten Feststellungen auch auf die andern Cerebroside zu übertragen.

Ich verzichtete von vornherein darauf, (außer den schon bekannten, der Cerebronfraktion angehörenden) reine Substanzen isolieren zu wollen; es war vielmehr meine Absicht, das Gemenge in größere Fraktionen zu zerlegen, welche sich in ihren Eigenschaften voneinander unterscheiden.

Bei diesen Versuchen, die auf S. 40ff. mitgeteilt sind, zeigte sich wiederum,<sup>1)</sup> daß die Cerebronfraktion aus einem krystallisierenden und einem amorphen Komponenten besteht, welche beide die gleiche Zusammensetzung haben und das gleiche Drehungsvermögen besitzen, sich aber in ihrer Löslichkeit unterscheiden. Während ich ersteren weiterhin Cerebron nenne, schlage ich für das letztere den Namen Phrenosin vor, mit dem Thudichum die ganze Fraktion bezeichnete.

Neben der Cerebronfraktion wurde eine leicht lösliche abgetrennt und eine dritte, welche in ihrer Löslichkeit zwischen beiden steht. Da diese letztere in ihren Eigenschaften durchaus an das Kerasin erinnert, so habe ich sie als Kerasinfraktion bezeichnet.

Ein letzter Abschnitt dieser Arbeit (S. 49ff.) beschäftigt sich mit der Spaltung dieser Kerasinfraktion.

---

<sup>1)</sup> H. Loening und H. Thierfelder, Diese Zeitschrift, Bd. 68, S. 464 (1910).

**Vergleich des nach dem<sup>1)</sup>Barytacetonverfahren gewonnenen Cerebrons (B. A. Cerebron) mit dem nach der älteren Methode erhaltenen.**

Das für den Versuch benutzte B. A. Cerebron krystallisierte völlig. Es enthielt im Mittel von 2 Analysen 69,77% C und 11,29% H,

0,1179 g gaben 0,3017 g CO<sub>2</sub> und 0,1210 g H<sub>2</sub>O = 69,79% C u. 11,40% H  
 0,1134 „ „ 0,2900 „ „ „ 0,1141 „ „ = 69,75% „ „ 11,18% „

also dieselben Werte, welche auch für Cerebron erhalten worden sind.<sup>1)</sup> Eine 3,96%ige Lösung in 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol drehte bei 50° im 10 cm-Rohr + 0,32°.  $[\alpha]_D$  also + 8,1°. Für Cerebron war für 5%ige Lösungen  $[\alpha]_D = + 6,3^\circ$  bis + 8,4° gefunden worden.<sup>2)</sup>

Mit diesem Cerebron (a) und einem nach dem alten Verfahren dargestellten ebenfalls völlig krystallisierenden (b) führte ich je einen Spaltungsversuch durch und verglich die einzelnen Spaltungsprodukte qualitativ und quantitativ. Im einzelnen verfuhr ich in folgender Weise.

Je 1 g wurde mit 50 ccm 10% konzentrierte Schwefelsäure enthaltendem Methylalkohol im Kölbchen am Rückflußkühler erhitzt. Es trat schnell völlige Lösung ein. Nach 7 stündigem Kochen und Erkalten in Eiswasser saugte ich den entstandenen schneeweißen Niederschlag ab und wusch ihn mit eiskalter methylalkoholischer Schwefelsäure derselben Konzentration aus.

a) Der Rückstand wurde im Scheidetrichter in Äther gelöst, die Lösung durch Schütteln mit Wasser von der Schwefelsäure befreit, filtriert, mit methylalkoholischer Kalilauge versetzt, der dabei entstehende flockige Niederschlag abfiltriert und mit Äther gewaschen.

α) Der Niederschlag löste sich beim Schütteln mit Schwefelsäure im Scheidetrichter sofort auf. Der beim Verdunsten der mit Wasser gewaschenen und filtrierten ätherischen Lösung hinterbleibende Rückstand wog bei a 0,3350 g und schied sich

<sup>1)</sup> H. Loening u. H. Thierfelder, a. a. O.

<sup>2)</sup> F. Kitagawa u. H. Thierfelder, Ebenda, Bd. 49, S. 288 (1906).

aus der heißen alkoholischen Lösung beim Abkühlen in den für Cerebronsäure typischen, gelblichen, runden oder gelappten, fein radiär gestreiften Gebilden ab. Der entsprechende Rückstand aus b wog 0,1650 g und schied sich aus Alkohol in gelblichen Rosetten ab, welche ebenfalls aus radiär angeordneten, dicht aneinander liegenden Nadeln bestanden. Nach dem Umkrystallisieren schmolz das Präparat aus a bei 99—100°, das aus b an demselben Thermometer bei 100—101°. Für Cerebronsäure hatte ich früher den Schmelzpunkt bei 99° gefunden.

β) Das Filtrat samt Waschäther wurde mit Schwefelsäure und Wasser geschüttelt, die ätherische Lösung filtriert und verdunstet. Der Rückstand aus a wog 0,086 g, schmolz bei 60° und krystallisierte aus Alkohol in feinen, kurzen, gebogenen Nadelchen, die meist sternförmig angeordnet waren. Der Rückstand aus b wog 0,189 g, schmolz bei 60° und krystallisierte aus Alkohol in denselben feinen, kurzen, gebogenen Nadelchen, die aber mehr wirr durcheinander lagen. Beide Präparate schmolzen nach dem Umkrystallisieren an demselben Thermometer bei 61—62°. Für den Cerebronsäuremethylester hatte ich früher den Schmelzpunkt bei 65° gefunden.

b) Das Filtrat wurde in einen Erlenmeyer-Kolben gegossen, mit methylalkoholischer Schwefelsäure nachgespült (für Auswaschen und Nachspülen wurden im ganzen 25 ccm gebraucht), mit 100 ccm Wasser versetzt, die klare Lösung auf dem Wasserbad vom Alkohol befreit und dann in einer Schale weiter eingedampft, bis sich eine ölige Abscheidung an der Oberfläche zu bilden begann. Diese Abscheidung ließ sich nach dem Erkalten gut abfiltrieren und auswaschen. Sie wurde dann nochmals mit Wasser fein zerrieben, abgesaugt, gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

α) Das Filtrat samt Waschwasser gab nach entsprechender Konzentration und Neutralisation des größten Teils der Schwefelsäure durch starke Natronlauge nur eine ganz minimale Abscheidung, welche wie ein feiner Staub auf der Oberfläche erschien; ich filtrierte sie ab und vereinigte sie mit der Hauptmenge. Das Filtrat wurde auf 150 ccm gebracht und nach Bertrand auf seinen Zuckergehalt untersucht.

Lösung a: 19,4 ccm (+ 0,6 ccm Natronlauge, welche zur Neutralisation nötig waren) verbrauchten im Mittel 4,76 ccm Kaliumpermanganatlösung<sup>1)</sup> (4,81, 4,69, 4,9, 4,7, 4,7) = 47,87 mg Cu = 25,46 mg Galaktose = 19,70% Galaktose.

Lösung b: 19,1 ccm (+ 0,9 ccm Natronlauge, welche zur Neutralisation nötig waren) verbrauchten im Mittel 4,78 ccm Kaliumpermanganatlösung<sup>1)</sup> (4,8, 4,86, 4,71, 4,76) = 48,07 mg Cu = 25,56 mg Galaktose = 20,07% Galaktose.

β) Die im Exsikkator getrocknete Abscheidung ließ sich durch Einwirkung von etwas Äther sehr leicht von dem anhaftenden Filtrierpapier befreien. Sie stellte nach völligem Trocknen im Vakuum eine spröde zerreibliche Masse dar, welche bei a 0,485 g, bei b 0,521 g wog. Sie wurde fein zerrieben und mit 15 ccm absolutem Alkohol erwärmt; es trat alsbald völlige Lösung ein.

Die beim Abkühlen der filtrierten Lösung erfolgende rein weiße krystallinische Abscheidung bestand bei a und bei b aus denselben Rosetten und wog abgesaugt und getrocknet bei a 0,1760 g, bei b 0,1880 g. Beide Präparate verhielten sich beim Erhitzen im Schmelzröhrchen ganz gleich. Das im Vakuum eingeeengte Filtrat hinterließ einen Rückstand, welcher nach dem Trocknen im Exsikkator mit kaltem Alkohol zerrieben und abgesaugt wurde. Er sah ebenfalls rein weiß aus, wog bei a 0,1555 g, bei b 0,1633 g und nach dem Umkrystallisieren aus wenig Alkohol 0,103 bzw. 0,108. Von den so erhaltenen 4 Krystallisationen wurden je 0,0265 g in kleinen Reagenzgläsern mit 0,5 ccm absolutem Alkohol übergossen und im Wasserbad langsam erwärmt. Die Lösung der aus den beiden ersten Krystallisationen stammenden Proben erfolgte früher als die Lösung der beiden anderen. Jene beiden schieden sich beim Abkühlen in Rosetten aus dichter gestellten Nadeln, diese beiden in Rosetten aus lockerer gestellten Nadeln ab. Die entsprechenden Präparate aus a und b verhielten sich ganz gleich. Nach dem mikroskopischen Verhalten und nach der Löslichkeit handelt es sich in der Hauptsache um Dimethylsphingosinsulfat.

<sup>1)</sup> Titer 1,0035.

Das Filtrat wurde im Vakuum eingengt und der Rückstand mit Alkohol aufgenommen. Nach Entfernung eines ganz geringen unlöslichen Teils durch Filtration schüttelte ich die Lösung nach Zusatz von Wasser und Natronlauge mit Äther und reinigte die ätherische Lösung mit Wasser. Der Rückstand, welcher nach Filtrieren und Verdunsten des Äthers hinterblieb, schied beim Neutralisieren mit alkoholischer Salzsäure die charakteristischen glänzenden Krystalle des Dimethylsphingosinchlorids aus. Abgesaugt bildeten sie eine silberglänzende Masse, welche bei a 0,026, bei b 0,009 g wog und aus Alkohol in schönen glashellen cholesterinähnlichen Tafeln krystallisierte.

Aus diesem Versuch geht mit Sicherheit hervor, daß eine irgendwie erhebliche Veränderung des Cerebrons bei seiner Gewinnung mit Hilfe des Barytacetoneverfahrens nicht vor sich geht. Worauf seine Eigenschaft, weniger leicht in den krystallisierten Zustand übergeführt zu werden, beruht, vermag ich nicht zu sagen.

#### Zerlegung des Barytacetonecerebrosidegemenges.

In der oben angeführten Arbeit<sup>1)</sup> wurde eine Fraktionierung nach Thudichum vorgenommen (Lösung in heißem Alkohol und Trennung der oberhalb 28° erfolgenden Abscheidungen von den unterhalb 28° stattfindenden). In der vorliegenden Untersuchung haben wir uns zur Abtrennung der Cerebron- (oder Phrenosin)-Fraktion wieder des für diesen Zweck bewährten 75% Chloroform enthaltenden Methylalkohols bedient.

Es standen etwa 38 g Cerebrosidegemenge zur Verfügung, welches noch kleine Mengen von Phosphor enthielt. Um es davon zu befreien, wurde es nochmals mit heißem Aceton behandelt. Ich teilte dazu das Material in 2 gleiche Hälften und benutzte zum Auskochen 1—2 l Aceton. Die Filtration geschah im Heißwassertrichter durch doppeltes Filter. Das Auskochen wurde, immer unter Verwendung der gleichen Acetonmenge (1—2 l), so oft wiederholt, bis das Filtrat beim Erkalten klar blieb. Ein 9 maliges Auskochen erwies sich nötig, wenn auch die Hauptmenge der

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 74, S. 286 (1911).

Substanz schon in die erste Auskochung hineinging. Die Abscheidungen waren alle flockig bis gallertig, sie wurden abgesaugt und vereinigt (32 g). Aus der Mutterlauge schied sich bei 0° noch 0,2 g ab. Nach Einengen auf die Hälfte erfolgte auch bei 0° keine weitere Abscheidung. Erst als auf 180 ccm (zuletzt im Vakuum) eingengt war, schied sich noch 1,1 g ab. Jetzt waren noch 0,8 g in Lösung, wie durch Verdunsten eines aliquoten Teils und Trocknen und Wägen des Rückstandes festgestellt wurde. Der durch Aceton nicht gelöste Teil wog 1—2 g. Dieser war stark P- und Ba-haltig, während die in Lösung gegangene Substanz, und zwar sowohl die beim Erkalten wieder abgeschiedene als auch die in der letzten Mutterlauge vorhandene ganz P-frei war. 0,03 g gaben nach der Veraschung mit Soda und Salpeter keine Spur einer Gelbfärbung bei der Prüfung mit Molybdänsäure.

Die 32 g (die unlöslichen Anteile und die Abscheidung aus der Mutterlauge wurden nicht berücksichtigt) wurden nun zur Abtrennung der Cerebron (Phrenosin)-Fraktion mit 75% Chf.-M. behandelt. Die für diesen Zweck geeignete Menge des Lösungsmittels betrug, wie durch Versuche mit kleinen Quantitäten ermittelt worden war, 240 ccm. Die Lösung erfolgte schon bei ganz geringem Erwärmen sehr leicht; die Abscheidung vollzog sich in verschlossenem Kolben in charakteristischer Weise an der Oberfläche. Die Filtration ging zunächst schnell vonstatten, wurde aber dann langsamer, indem sich schleimige Abscheidungen bildeten. Der Filtrerrückstand wurde deshalb mit neuem 75% Chloroform enthaltenden Methylalkohol gelöst und durch Warmwassertrichter filtriert. Das Filtrat betrug 100 ccm. Aus ihm schied sich wieder beim Stehen in verschlossenem Kolben die typische Abscheidung an der Oberfläche ab. Sie ließ sich nun gut absaugen und wog nach dem Trocknen 13,25 g (1. Fraktion: Cerebron (Phrenosin)-Fraktion). Die vereinigten Filtrate gaben nochmals eine geringe Abscheidung an der Oberfläche, welche aber nicht abfiltriert werden konnte, da die klare Flüssigkeit auf dem Filter alsbald schleimig und unfiltrierbar wurde. Sie wurde deshalb mit dem gleichen Volumen Methylalkohol versetzt. Nach einiger Zeit erfolgte Trübung und Abscheidung,

die am nächsten Tag abgesaugt wurde und getrocknet 11,60 g wog (2. Fraktion). Da das Filtrat auch auf Zusatz der 4fachen Menge Methylalkohol klar blieb (wie sich an einer kleinen Probe feststellen ließ), so wurde es auf etwa 90 ccm eingengt. Die beim Erkalten entstehende und abgesaugte Abscheidung wog nach dem Trocknen 6,08 g (3. Fraktion). Die Mutterlauge hinterließ beim Verdunsten im Vakuum einen Rückstand, welcher 0,61 g wog. Über Menge, Farbe, Zuckergehalt und Drehungsvermögen der einzelnen Fraktionen gibt die Tabelle Auskunft.

Fraktion	Menge	Farbe	Zuckergehalt (als Galakt. berechn.) in %	Drehungsvermögen $[\alpha]_D$
1	13,25	weiß	20,08	+ 7,2
2	11,60	ganz leicht gelblich	19,65	+ 0
3	6,08	hellgelb	17,69	nicht bestimmt
4	0,61	gelb	15,39	> >

		KMnO <sub>4</sub>	Cu	Zucker
Fraktion 1.	a) 0,1033 g <sup>1)</sup>	4,1 ccm <sup>2)</sup>	39,28 mg	20,73 mg 20,07%
	b) 0,1255 >	4,8 > <sup>3)</sup>	47,40 >	25,21 > 20,09%
	c) eine 4%ige Lösung in 75% Chlorof.-Methylalk. drehte im 10 cm-Rohr bei 50° = + 0,288°.			

		KMnO <sub>4</sub>	Cu	Zucker
Fraktion 2.	a) 0,1250 g	4,83 ccm <sup>2)</sup>	46,27 mg	24,6 mg 19,68%
	b) 0,1200 >	4,50 > <sup>3)</sup>	44,40 >	23,56 > 19,63%
	c) eine 4%ige Lösung in 75% Chlorof.-Methylalk. drehte im 10 cm-Rohr bei 50° = + 0°.			

		KMnO <sub>4</sub>	Cu	Zucker
Fraktion 3.	a) 0,1596 g	5,56 ccm <sup>2)</sup>	53,26 mg	28,37 mg 17,78%
	b) 0,1187 >	4,0 > <sup>3)</sup>	39,50 >	20,89 > 17,60%
Fraktion 4.	a) 0,2575 >	7,46 > <sup>2)</sup>	71,47 >	38,65 > 15,01%
	b) 0,1189 >	3,60 > <sup>3)</sup>	35,55 >	18,75 > 15,77%

### Fraktion I (Cerebron- oder Phrenosinfraktion).

Sie wurde in 250 ccm 10% Chloroform enthaltendem Methylalkohol heiß gelöst und die Lösung zum Zweck einer

<sup>1)</sup> Alle Zuckerbestimmungen wurden in der in dieser Zeitschrift. Bd. 77, S. 204 (1912), beschriebenen Weise ausgeführt.

<sup>2)</sup> Faktor 9,58.

<sup>3)</sup> Faktor 9,875.



möglichst feinen Abscheidung unter beständigem Umschütteln langsam erkalten gelassen. Jetzt wurde wieder unter lebhafter Bewegung in einem 40—50° warmen Wasserbad ganz kurze Zeit erwärmt und durch einen Warmwassertrichter filtriert. Der Filtrerrückstand kam in den Kolben zurück und erfuhr wieder dieselbe Behandlung. Das gleiche Verfahren wurde sechsmal wiederholt. Die Abscheidungen in den einzelnen Auszügen glichen einander makroskopisch und mikroskopisch. Sie befanden sich am Boden und an den Wandungen, von einer klaren Flüssigkeit umgeben, und hatten eine flockige Beschaffenheit. Zum Teil bildeten sie eine lockere zusammenhängende Masse, welche bei leichter Bewegung ihren Zusammenhang bewahrte, beim Schütteln aber in feine Flocken zerfiel. Mikroskopisch bestanden sie aus Kügelchen verschiedener Größe. Makroskopisch und mikroskopisch handelte es sich um Formen, wie sie auch von dem auf andere Weise dargestellten Cerebron bekannt waren.

Die Abscheidungen aus den ersten drei Auszügen wurden vereinigt (Fraktion 1a) und ebenso die aus den späteren und diese letzteren wiederum mit dem nicht in Lösung gegangenen Teil (Fraktion 1b).

Fraktion 1 a enthielt 18,82% Galaktose.  $[\alpha]_D = + 7,34^\circ$

» 1 b » 20,11% » » = + 7,41°

#### Fraktion 1 a.

a) 0,1223 g 4,52 ccm  $\text{KMnO}_4$  <sup>1)</sup> 43,44 mg Cu 23,02 mg Galakt. = 18,82%

b) eine 6,67%ige Lösung in 75% Chlorof.-Methylalk. im 10 cm-Rohr bei 50° drehte + 0,49°.

#### Fraktion 1 b.

a) 0,1166 g 4,6 ccm  $\text{KMnO}_4$  <sup>1)</sup> 44,21 mg Cu 23,45 mg Galakt. = 20,11%

b) 0,1120 » 4,43 » » <sup>1)</sup> 42,57 » » 22,54 » » = 20,12%

c) eine 5,26%ige Lösung in 75% Chlorof.-Methylalk. im 10 cm-Rohr bei 50° drehte + 0,39°.

Aus den vereinigten Mutterlaugen schied sich nach Einengen 0,74 g Substanz mit einem Galaktosegehalt von 18,30% ab. Das Filtrat von dieser Abscheidung enthielt nur noch 0,16 g Substanz.

Fraktion 1 b krystallisierte bei der Krystallisationsprobe

<sup>1)</sup> Faktor 9,61.

teilweise, nachdem vorher eine Zeitlang am Rückflußkühler mit zur Lösung unzureichender Menge 10 % Chloroform enthaltendem Methylalkohol gekocht worden war. Fraktion 1a krystallisierte auch nach dieser Behandlung nicht. Beide Unterfraktionen wurden nun nochmals, jede für sich, durch Extraktion mit 10%igem Chloroformmethylalkohol bei 40—50° in der oben beschriebenen Weise zerlegt. Die dabei gewonnenen schwerstlöslichen Teile von 1b krystallisierten jetzt nach vorausgegangenem Kochen (siehe oben) völlig, die leichtlöslichen gar nicht, die zwischenliegenden teilweise, während von der Fraktion 1a auch die schwerstlöslichen Teile keine Krystallisation zeigten. Unter Benutzung der oben vorgeschlagenen Nomenklatur, nach der mit Cerebron der krystallisierende, mit Phrenosin der nicht krystallisierende Komponent der Fraktion 1 zu bezeichnen ist, betrug die Menge des erhaltenen Cerebrons 5,1 g, die des Phrenosins 1,8 g. Bei der polarimetrischen Bestimmung wurde für das Cerebron  $[\alpha]_D = + 8,1^\circ$ , für das Phrenosin  $[\alpha]_D = + 7,4^\circ$  gefunden.

Cerebron: eine 3,96%ige Lösung in 75% Chlorof.-Methylalk. im 10 cm-Rohr drehte bei 50°  $+ 0,32^\circ$ .

Phrenosin: eine 5%ige Lösung in 75% Chlorof.-Methylalk. im 10 cm-Rohr drehte bei 50°  $+ 0,37^\circ$ .

Die Differenzen liegen innerhalb der Fehlergrenzen für mein Auge.

Das Cerebron enthielt 69,77% C und 11,29% H (siehe S. 37), das Phrenosin wurde nicht analysiert. Es erschien das unnötig, da schon Analysen des nach dem alten Verfahren dargestellten Phrenosins vorlagen,<sup>1)</sup> aus denen hervorgeht, daß es die gleiche Zusammensetzung wie das Cerebron besitzt. Dagegen wurde noch eine Polarisation des nach dem alten Verfahren gewonnenen Phrenosins ausgeführt. Sie ergab  $[\alpha]_D = + 7,4^\circ$ . Eine 5,4%ige Lösung in 75% Chlorof.-Methylalkohol drehte im 10 cm-Rohr bei 50°  $= + 0,40^\circ$ .

Es mögen hier noch Analysen des Cerebrons in krystallisiertem und in amorphem Zustande mitgeteilt werden. Das Präparat war nach dem alten Verfahren (also ohne Baryt)

<sup>1)</sup> H. Loeningu. H. Thierfelder, Diese Zeitschr., Bd. 68, S. 464 (1910).

dargestellt und in ganz besonders sorgfältiger Weise von Phrenosin befreit worden.

Das in krystallisiertem Zustande analysierte Präparat ergab im Mittel: 70,20% C, 11,20% H und 1,71% N.

Das in amorphem Zustande analysierte Präparat ergab im Mittel: 70,48% C und 11,16% H.

Krystallisiert:

0,0972 g gaben 0,2495 g CO<sub>2</sub> und 0,0985 g H<sub>2</sub>O = 70,01% C u. 11,26% H  
 0,0822 „ „ 0,2122 „ „ „ 0,0824 „ „ = 70,40% „ „ 11,14% „ „  
 0,3808 „ verbrauchten nach Kjeldahl 4,65 ccm n/10-Säure = 1,71% N

Amorph:

0,1033 g gaben 0,2676 g CO<sub>2</sub> und 0,1043 g H<sub>2</sub>O = 70,65% C u. 11,22% H  
 0,0854 „ „ 0,2202 „ „ „ 0,0853 „ „ = 70,32% „ „ 11,10% „ „

Die Elementaranalyse deckt also keinen Unterschied zwischen diesen beiden Abscheidungsformen auf.

Cerebron und Phrenosin stimmen in Zusammensetzung und in spezifischer Drehung überein. Die bis jetzt festgestellten Unterschiede bestehen in der etwas leichteren Löslichkeit des Phrenosins z. B. in 10 oder 20% Chloroform enthaltendem Methylalkohol oder in 20% Chloroform enthaltendem Aceton beim Erwärmen auf 40 bis 50° und in der leichten Gelbfärbung, welche beim Erhitzen mit säurehaltigem Alkohol auftritt.<sup>1)</sup> Der Spaltung ist das Phrenosin noch nicht unterworfen worden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich hier ein Unterschied in bezug auf den Säurekomplex ergibt.<sup>2)</sup>

### Fraktionen 2 und 3.

Fraktion 2. Eine durch gelindes Erwärmen hergestellte Lösung in 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol verwandelte sich bei Zimmertemperatur in eine schleimige fadenziehende Masse, auch eine 4%ige Lösung verhielt sich noch so. Um eine Fraktionierung zu bewirken, wurde die ganze Menge in 250 ccm 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol gelöst und die Lösung nach und nach in längeren Pausen mit Methylalkohol versetzt. Nach Zusatz von 200 ccm (42% Chloroform)

<sup>1)</sup> H. Loening u. H. Thierfelder, a. a. O.

<sup>2)</sup> Bei der Schwierigkeit der Reindarstellung dieser Substanzen ist die Möglichkeit, daß in dem Phrenosin ein mit kleinen Beimengungen behaftetes Cerebron vorliegt, nicht ganz von der Hand zu weisen. Es ist mir aber unwahrscheinlich.

entstand ein reichlicher Niederschlag. Er wurde abfiltriert (Fraktion 2<sup>1</sup>), das Filtrat schied bei 0° einen weiteren Niederschlag ab, welcher ebenfalls abgesaugt wurde (Fraktion 2<sup>2</sup>). Das neue Filtrat hinterließ beim Einengen im Vakuum einen Rückstand (Fraktion 2<sup>3</sup>).

Fraktion 3. Sie war wesentlich löslicher in 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol als Fraktion 2. Eine 5%ige Lösung blieb dauernd klar, auch beim Abkühlen unter der Wasserleitung; eine 25%ige Lösung blieb bei Zimmertemperatur klar, bildete aber unter der Wasserleitung Abscheidungen. Um eine Fraktionierung zu bewirken, wurde die ganze Menge in 24 ccm 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol gelöst und die Lösung mit 40 ccm Methylalkohol versetzt (28% Chloroform). Es entstand ein reichlicher Niederschlag, welcher abgesaugt wurde (Fraktion 3<sup>1</sup>). Das Filtrat gab beim Einengen im Vakuum eine weitere Abscheidung (Fraktion 3<sup>2</sup>) und das neue Filtrat hinterließ beim Verdunsten im Vakuum einen Rückstand (Fraktion 3<sup>3</sup>).

Die Mengen und der Zuckergehalt der einzelnen Fraktionen finden sich in der Tabelle zusammengestellt, zusammen mit den Mengen und dem Zuckergehalt der Mutterfraktionen.

Fraktion	Menge	Zucker		Fraktion	Menge	Zucker (als Galaktose ber.)	
		%	g			%	g
2	11,60	19,65	2,28	2 <sup>1</sup>	7,0	18,91	1,32
				2 <sup>2</sup>	3,0	15,93	0,48
				2 <sup>3</sup>	1,05	18,16	0,19
					11,05		1,99
3	6,08	17,69	1,08	3 <sup>1</sup>	4,0	19,48	0,78
				3 <sup>2</sup>	1,62	13,37	0,22
				3 <sup>3</sup>	0,16	14,8	0,02
					5,78		1,02

  

		KMnO <sub>4</sub> <sup>1)</sup>	Cu	Zucker	
Fraktion 2 <sup>1</sup> .	a) 0,1131 g	4,25 ccm	40,71 mg	21,53 mg	19,04%
	b) 0,1133 „	4,20 „	40,24 „	21,28 „	18,78%
Fraktion 2 <sup>2</sup> .	0,1136 „	4,2 „	40,24 „	21,28 „	15,93%
„ 2 <sup>3</sup> .	0,1075 „	3,86 „	36,98 „	19,52 „	18,16%
„ 3 <sup>1</sup> .	0,1126 „	4,33 „	41,48 „	21,94 „	19,48%
„ 3 <sup>2</sup> .	0,1131 „	3,01 „	28,83 „	15,12 „	13,37%
„ 3 <sup>3</sup> .	0,1263 „	3,7 „	35,45 „	18,7 „	14,8%

<sup>1)</sup> Faktor 9,58.

Auf Grund des hohen Zuckergehaltes und der mikroskopischen und makroskopischen Übereinstimmung in der Abscheidung wurden nun die Fraktionen 2<sup>1</sup> und 3<sup>1</sup> miteinander vereinigt und in der oben beschriebenen Weise mit 10% Chf.-M. bei 40—50° extrahiert. Bei 3 maliger Behandlung war völlige Lösung eingetreten. Bei den beiden ersten Abscheidungen ließ sich (6—7% Lsg. in 75% Chf.-M. bei 50°) eine ganz schwache Rechtsdrehung feststellen, bei der dritten nicht, doch stand diese nur in so geringer Menge zur Verfügung, daß die Konzentration eine viel schwächere war. Der Zuckergehalt betrug 19,72, 19,33 und 19,0%. Diese 3 Portionen wurden nun mit 2 andern, welche aus anderm Barytacetonecerebrosidegemenge erhalten worden waren und in hohem Zuckergehalt (20,47% und 19,64%), Art der Abscheidung und in schwachem rechtsseitigem Drehungsvermögen mit ihnen übereinstimmten, für die weitere Untersuchung vereinigt.

Die Fraktionen 2<sup>3</sup> und 3<sup>2</sup> waren sehr viel leichter löslich als die eben besprochenen, sie ließen sich z. B. aus 10% Chf.-M. nicht fraktionieren, da bei 40—50% sofort alles in Lösung ging und beim Erkalten keine Abscheidung erfolgte. Sie wurden mit der Fraktion 2<sup>2</sup>, welche in bezug auf die Löslichkeit eine Mittelstellung einnahm, aber auch einen geringen Zuckergehalt hatte, vereinigt.

Die Fraktionen 2 und 3 waren also so in einen schwerer löslichen Anteil, welcher 19—20% Zucker enthielt und schwach rechts drehte, und einen leichter löslichen, welcher weniger Zucker enthielt, zerlegt worden. Daß von einer scharfen Trennung keine Rede sein kann, daß besonders in dem leichter löslichen Teil noch schwerer lösliche Anteile enthalten sein müssen, kann nicht zweifelhaft sein.

Der schwerer lösliche Anteil der Fraktionen 2 und 3  
(Kerasinfraktion).

Seine Menge betrug (einschließlich der oben erwähnten Portionen anderer Darstellung, welche das gleiche Verhalten zeigten und hinzugenommen worden waren) 15,3 g.

Er wurde wiederum einer fraktionierten Extraktion mit 10% Chf.-M. bei 40—50° unterworfen; bei der 3. Behand-

lung ging fast alles in Lösung, der Rest wurde durch Erhitzen in Lösung gebracht.

Die Abscheidungen erfolgten aus den drei ersten Auszügen für die makroskopische und mikroskopische Betrachtung in ganz ähnlicher Weise und ebenso, wie es auch bei den Fraktionen vor der letzten Vereinigung der Fall gewesen war. Sie unterschieden sich aber durchaus von den Ausscheidungen der Fraktion I aus dem gleichen Lösungsmittel. Sie waren viel massiger und fester zusammenhängend, nahezu die ganze Flüssigkeit erfüllend. Mikroskopisch bestanden sie aus einem Gewebe feinsten Fäden, welche z. T. radiär angeordnet sind, so daß Rosetten entstehen, welche sich gegenseitig berühren und in einander übergehen z. T. Wirbel bilden. In dieses Fadenwerk eingebettet liegen rundliche Gebilde, z. T. einzeln, z. T. zu mehreren oder vielen beieinander. Die Ausscheidung aus der letzten Lösung verhielt sich makroskopisch und mikroskopisch anders, aber auch von der Ausscheidung der Fraktion 1 ganz verschieden. Ihre Menge war aber nur ganz gering (0,18 g). Beim Einengen der gesamten Mutterlauge im Vakuum bis zur Trockne hinterblieben nur 0,74 g = 4,8%.

Ich habe diese Fraktion Kerasinfraktion genannt, weil sie in ihrer Löslichkeit und der Art sich abzuscheiden durchaus an das Kerasin erinnert. Die folgende Tabelle enthält die Angaben über die Menge der drei Unterfraktionen, ihren Zuckergehalt und ihr optisches Verhalten.

Kerasinfraktion	Menge	Zuckergehalt %	Optisches Verhalten
1	5,94	19,36	inaktiv <sup>1)</sup>
2	5,72	19,53	ganz schwache Rechtsdrehung
3	2,03	19,56	vielleicht ganz schwache Rechtsdrehung

<sup>1)</sup> Die Inaktivität des Kerasins ist schon von Levene und Jacobs (Journ. of Biol. Chemistry, Vol. 12, p. 389, 1912) beobachtet worden. Der von diesen Autoren aufgestellten Hypothese, daß es sich bei den Cerebrosiden um stereoisomere Substanzen handelt, auf die hin sogar schon eine neue Nomenklatur vorgeschlagen wird, vermag ich auf Grund der später mitzuteilenden Ergebnisse der Spaltungsversuche der Kerasinfraktion nicht zuzustimmen.

	KMnO <sub>4</sub> <sup>1)</sup>	Cu	Zucker (als Galaktose ber.)	
0,1148 g	4,18 ccm	42,01 mg	22,23 mg	19,36%
0,1172 »	4,30 »	43,21 »	22,89 »	19,53%
0,1106 »	4,07 »	40,90 »	21,63 »	19,56%

Die Polarisationen wurden mit 6,7%igen Lösungen in 75% Chloroform enthaltendem Methylalkohol im 10 cm-Rohr bei 50° ausgeführt.

Die Analysen der 3 Fraktionen, welche zur Orientierung dienen sollten, haben folgendes Resultat ergeben:

	Kerasinfraktion 1		Kerasinfraktion 2		Kerasinfraktion 3	
C	70,87	70,43	71,17	71,51	70,46	70,50
H	11,39	11,23	11,34	11,36	11,20	11,23
N	1,60	—	1,57	—	1,66	—

**Fraktion 1.**

0,1044 g gaben 0,2713 g CO<sub>2</sub> u. 0,1070 g H<sub>2</sub>O = 70,87% C u. 11,39% H  
 0,1094 » » 0,2825 » » » 0,1106 » » = 70,43% » » 11,23% »  
 0,4124 g verbrauchten nach Kjeldahl 4,7 ccm n/10-Säure = 1,60% N.

**Fraktion 2.**

0,1106 g gaben 0,2886 g CO<sub>2</sub> u. 0,1129 g H<sub>2</sub>O = 71,17% C u. 11,34% H  
 0,1154 » » 0,3026 » » » 0,1180 » » = 71,51% » » 11,36% »  
 0,2520 » verbrauchten nach Kjeldahl 2,83 ccm n/10-Säure = 1,57% N.

**Fraktion 3.**

0,1004 g gaben 0,2594 g CO<sub>2</sub> u. 0,1012 g H<sub>2</sub>O = 70,46% C u. 11,20% H  
 0,0906 » » 0,2342 » » » 0,0916 » » = 70,50% » » 11,23% »  
 0,2621 » verbrauchten nach Kjeldahl 3,1 ccm n/10-Säure = 1,66% N.

Die C- und H-Werte sind etwas höher, die N-Werte niedriger, als die von den früheren Untersuchern für Kerasin gefundenen.

Der leichter lösliche Anteil der Fraktionen 2 und 3 wurde noch nicht untersucht.

**Spaltung der Kerasinfraktion.**

Es wurden drei Spaltungsversuche mit der Kerasinfraktion 1 und zwei mit der Kerasinfraktion 2 unternommen und in

<sup>1)</sup> Faktor 1,005.

derselben Weise, wie oben (S. 37) für das Cerebron beschrieben, durchgeführt. Ich ging von gewogenen Mengen aus und verfuhr möglichst quantitativ. Die Kerasinfraktionen 1 und 2 verhielten sich völlig gleich.

Ein auffallender Unterschied gegenüber der Cerebronspaltung zeigte sich sofort. Während für 1 g Cerebron 50 ccm 10%  $H_2SO_4$  enthaltender Methylalkohol genügte, um die Flüssigkeit während der Spaltung dauernd klar zu erhalten, war das bei dem Kerasin nicht der Fall. Es trat zwar auch beim Erhitzen sofortige Lösung ein, aber nach etwa  $\frac{5}{4}$ stündigem Kochen begann eine Opalescenz aufzutreten und etwas später zeigten sich Öltropfen an der Oberfläche, die, einmal gebildet, auch auf Zusatz von mehr Lösungsmittel nicht wieder verschwanden. Die Ölbildung läßt sich aber vermeiden und die Opalescenz sofort zum Verschwinden bringen, wenn man, sobald die Trübung auftritt, einige Kubikzentimeter schwefelsäurehaltigen Alkohols zufügt. Die Trübung erscheint im Verlauf des Kochens noch mehrmals, läßt sich aber stets durch Zusatz von etwas Lösungsmittel beseitigen. Nach Zusatz von 20—30 ccm ist die Gefahr vorüber und die Flüssigkeit bleibt bis zum Schluß (7—8 Stunden) klar.

Außerdem wurden noch folgende Abweichungen beobachtet. Die von dem beim Erkalten des Hydrolysats auftretenden Niederschlag abfiltrierte alkoholische Flüssigkeit gibt mit Wasser zunächst eine Trübung, welche auf Zusatz von mehr Wasser wieder verschwindet; dasselbe ist beim Cerebron der Fall. Beim Erhitzen erfolgt aber aufs neue eine starke nach einiger Zeit wieder völlig verschwindende Trübung, was beim Cerebron nicht beobachtet wurde. Ferner: die freie Base, welche aus der Mutterlauge des Sulfats dargestellt wurde, krystallisierte beim Verdunsten ihrer ätherischen Lösung völlig, ebenfalls im Gegensatz zu den Beobachtungen beim Cerebron.

Einen Überblick über die Mengen der bei den einzelnen Spaltungen erhaltenen Produkte gibt folgende Tabelle, in die auch die bei der Cerebronspaltung gewonnenen Werte eingetragen sind.



1	2		3		4		5		6	
	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
Cerebrosid	Beim Erkalten des Hydrolysats ausfallende Substanz (Säure + Ester)		Zucker (als Galaktose berechn.)		Abscheidung aus der eingeeengten sauren wässrigen Lösung		Abscheidung aus der warmen alkoholischen Lösung von 4 beim Erkalten (Sulfat)		Salzsäurefällung der Base, welche aus der Mutterlauge von 5 gewonnen wurde (Chlorid)	
Kerasinfraktion 1 . . . . .	1,0125	28,7	0,1938	19,14	0,597	59,0	0,275	27,2	0,054	1,7
	1,0700	32,2	—	—	0,6015	56,2	0,306	28,6		
	1,0753	27,9	0,2069	19,24	0,60	55,8	0,281	26,1		
Kerasinfraktion 2 . . . . .	1,0037	30,3	0,2007	20,00	0,55	54,8	0,242	24,1	0,048	3,2
	0,4989	29,1	0,0951	19,05	0,30	60,1	0,110	22,0		
Cerebron . . . . .	1,0	35,4	0,2007	20,07	0,521	52,1	0,296	29,6	0,009	0,9
Barytacetonecerebron . . . . .	1,0	42,1	0,1970	19,70	0,485	48,5	0,279	27,9	0,026	2,6

4\*

Diese Übersicht zeigt deutlich, daß jedenfalls große Verschiedenheiten in dem Aufbau der Kerasinfraktionen und des Cerebrons nicht bestehen. Die geringere Menge von «Säure + Ester» (Spalte 2) und Hand in Hand damit die größere Menge der «Abscheidung aus der eingeeengten sauren wässrigen Lösung» (Spalte 4), welche aus den Kerasinen erhalten wurden, erklären sich leicht aus der größeren Quantität des angewandten Lösungsmittels, aus dem die Abscheidung beim Erkalten weniger vollständig erfolgte, die geringere Menge von «Sulfat» (Spalte 5) daraus, daß es aus einer weniger reinen (mehr Säure und Ester enthaltenden) Lösung unvollständiger ausfiel.

Die Untersuchung der einzelnen bei der Spaltung erhaltenen Rohprodukte ergab folgendes:

**Sulfat.** Aus den vereinigten Sulfaten, welche Linksdrehung<sup>1)</sup> zeigten, wurde die freie Base gewonnen und aus dieser wieder das Sulfat. Aus dem beim Absaugen des Sulfats erhaltenen Filtrat und ebenso aus der bei seiner Umkrystallisation gewonnenen Mutterlauge stellte ich wieder die freie Base her. Sie gab beim Neutralisieren mit alkoholischer Salzsäure ein typisches Chlorid, welches mit den andern Chloriden vereinigt wurde. Das Sulfat kam direkt (1) und nach nochmaliger Umkrystallisation (2) zur Analyse.

Ein zweites Präparat gewann ich aus dem Rohsulfat einer Spaltung, zu der außer der Kerasinfraktion 1 und 2 noch die Kerasinfraktion 3 und ein anderes ebenfalls nach dem Barytverfahren dargestelltes Kerasin verwendet worden war. In diesem Falle wurde die aus dem Sulfat dargestellte Base direkt mit Salzsäure neutralisiert, das abgeschiedene Chlorid abgesaugt, das Filtrat von einer beim Einengen auftretenden zweiten Chloridabscheidung befreit und zur Trockne verdunstet. Der

<sup>1)</sup> Zur Prüfung auf optische Aktivität diente das Rohsulfat aus Kerasinfraktion 2. Daß Sphingosinsulfat linksdrehend ist, haben Levene und Jacobs (Journ. of Biol. Chem., Vol. 11, p. 547, 1912) festgestellt. Ich hatte früher (Diese Zeitschrift, Bd. 43, S. 29, 1904) in dieser Beziehung geschrieben: «Optisch-aktiv scheint das Sphingosinsulfat nicht zu sein, indessen müssen Versuche mit konzentrierteren Lösungen angestellt werden.»

Rückstand löste sich jetzt bis auf eine leichte Trübung in Äther. Die aus ihm gewonnene Base wurde in das Sulfat übergeführt und dieses nach zweimaligem (3) und dreimaligem (4) Umkrystallisieren analysiert.

	1.	2.	3.	4.	Sphingosin- sulfat	Dimethylsphingosin- sulfat
C . . .	62,38	61,66	62,60	62,94	61,08	62,98
H . . .	11,15	11,11	11,25	11,41	10,78	11,05
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . .	14,92	—	—	—	14,67	13,54

1. 0,1030 g gaben 0,2356 g CO<sub>2</sub> u. 0,1034 g H<sub>2</sub>O = 62,38% C u. 11,15% H  
 0,1115 „ „ 0,0398 „ BaSO<sub>4</sub> = 14,92% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
2. 0,0794 „ „ 0,1795 „ CO<sub>2</sub> u. 0,0794 g H<sub>2</sub>O = 61,66% C u. 11,11% „
3. 0,0880 „ „ 0,2020 „ „ „ 0,0891 „ „ = 62,60% „ „ 11,25% „
4. 0,0819 „ „ 0,1890 „ „ „ 0,0841 „ „ = 62,94% „ „ 11,41% „

Das Präparat 3/4 ist darnach Dimethylsphingosinsulfat, das Präparat 1/2 ein Gemenge von diesem und Sphingosinsulfat.

In Übereinstimmung damit steht, daß das Präparat 4 ganz frei von den für das Sphingosinsulfat charakteristischen spießigen Krystallen war, während diese in den Präparaten 1 und 2 neben den zu Rosetten angeordneten nadelförmigen vorhanden waren.

Daß eine Trennung von Sphingosin und Dimethylsphingosinsulfat große Schwierigkeiten hat und besonders bei so kleinen Mengen, wie sie hier zur Verfügung standen, unausführbar ist, war mir schon von der Spaltung des Cerebrons bekannt.<sup>1)</sup> Dort wurden bei der Analyse der Sulfate ganz ähnliche Werte erhalten.

Alle Präparate zeigten die charakteristische Eigenschaft, beim Absaugen eine elastische Beschaffenheit anzunehmen.

Chlorid. Zur Analyse kamen 2 Präparate, welche demselben Material entstammten wie die beiden Sulfate. Sie krystallisierten aus Alkohol in den charakteristischen glas-hellen cholesterinartigen Tafeln.

<sup>1)</sup> F. Kitagawa und H. Thierfelder, Diese Zeitschrift, Bd. 49, S. 286 (1906).

	1.	2.	Dimethylsphingosinchlorid
C . . . .	66,09	64,96	65,18
H . . . .	11,60	11,79	11,52

1) 0,0638 g gaben 0,1546 g CO<sub>2</sub> u. 0,0666 g H<sub>2</sub>O = 66,09% C u. 11,60% H

2) 0,0922 „ „ 0,2196 „ „ 0,0978 „ „ = 64,96 „ „ 11,79 „ „

Auffallenderweise lag der Schmelzpunkt bei 139°, während früher für Dimethylsphingosinchlorid 132—133° gefunden worden war.<sup>1)</sup> Ein älteres aus Protagon dargestelltes Sphingosinchlorid zeigte ebenfalls den hohen Schmelzpunkt. Dieser Widerspruch bedarf noch der Aufklärung.

**Säure und Ester.** Die Rohsubstanzen aus den beschriebenen Spaltungsversuchen (1,3845 g) löste ich gemeinsam in Äther, fällte mit methylalkoholischer Kalilauge, filtrierte den Niederschlag ab, wusch ihn mit Äther, vertrieb ihn dann in der Reibschale gründlich mit Äther und filtrierte wieder.

**Niederschlag.** Er wurde im Scheidetrichter mit Schwefelsäure und Äther geschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, filtriert und verdunstet. Der Rückstand wog 0,28 g = 6% der Kerasinmenge, aus der er stammte. Die Substanz krystallisierte aus Alkohol in den charakteristischen Formen der Cerebronsäure, zeigte Rechtsdrehung<sup>2)</sup> und schmolz bei 97°. Ich hatte früher für die Cerebronsäure den Schmelzpunkt bei 99° gefunden.

Die Analyse ergab 75,18% C und 12,55% H, während Cerebronsäure 75,38% C und 12,56% H verlangt.

0,0920 g gaben 0,2536 g CO<sub>2</sub> und 0,1039 g H<sub>2</sub>O = 75,18% C und 12,55% H.

Die bei der Untersuchung einer anderen Kerasinspaltungsflüssigkeit an dieser Stelle gefundene Säure wurde in das Natronsalz übergeführt, das nach 2 maliger Krystallisation aus 96%igem Alkohol bei der Analyse 5,47% Na (0,1421 g gaben 0,0240 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) lieferte. Cerebronsaures Natrium enthält 5,48% Na.

Es handelt sich also um Cerebronsäure, welche aber in nur geringer Menge (6%) aufgetreten ist.

<sup>1)</sup> F. Kitagawa und H. Thierfelder a. a. O.

<sup>2)</sup> Die Rechtsdrehung der Cerebronsäure ist von Levene und Jacobs (Journ. of Biolog. Chem. Vol. 12, p. 381. 1912) festgestellt worden.

Filtrat. Der beim Verdunsten hinterbleibende Rückstand wog 1,0255 g = 22% des Kerasins, aus dem er stammt. Er krystallisierte aus Alkohol in hellen Tafeln und bildete abgesaugt eine silberglänzende, etwas zähe und nicht zerreibliche Masse. Die alkoholische Lösung reagierte neutral. Schmelzpunkt 57°. Eine 14,12%ige Lösung in Chloroform zeigte im 20 cm-Rohr keine Drehung. Denselben Körper erhielt ich in ähnlicher Ausbeute aus allen untersuchten Kerasinpräparaten und zwar

aus 3g der Kerasinfraktion 1 u. 2 nach dem Umkrystallisieren 0,454 g = 15%  
 > 1 > > > > 3 > > > > > 0,18 > = 18%  
 > 2 > Kerasin > > > > > 0,36 > = 18%

Alle diese 4 Präparate verhielten sich ganz gleich. Gleich konzentrierte und gleich warme alkoholische Lösungen (0,07 g in 2 ccm) begannen nach genau der gleichen Abkühlungszeit zu krystallisieren. Die Krystalle unterschieden sich nicht voneinander, sie stellten Tafeln dar mit unregelmäßigen Formen, scharfen und weniger scharfen Begrenzungslinien. Abgesaugt bildeten sie eine glänzende, etwas zähe, nicht zu einem Pulver zerreibliche Masse. Sie schmolzen alle bei 57°. Nochmals umkrystallisiert wurden sie analysiert (2), ebenso das oben erwähnte Präparat (1).

	1.	2.	C <sub>23</sub> H <sub>47</sub> COOCH <sub>3</sub>	C <sub>24</sub> H <sub>49</sub> COOCH <sub>3</sub>
C . . . . .	78,31	78,85	78,53	78,79
H . . . . .	13,14	13,50	13,09	13,13

1. 0,1081 g gaben 0,3104 g CO<sub>2</sub> u. 0,1278 g H<sub>2</sub>O = 78,31% C u. 13,14% H  
 2. 0,0781 > > 0,2258 > > > 0,0949 > > = 78,85% > > 13,50% >

Die alkoholische Lösung der Substanz wurde mit alkoholischer Kalilauge am Rückflußkühler <sup>3</sup>/<sub>4</sub> Stunden gekocht und dann in einer Schale auf dem Wasserbad eingengt. Beim Erkalten schied sich ein gelatinöser Niederschlag ab, welcher abgesaugt und im Scheidetrichter mit Schwefelsäure und Äther geschüttelt wurde. Es trat völlige Lösung ein. Der Äther wurde mit Wasser gewaschen, filtriert und verdunstet, der Rückstand in warmem Alkohol gelöst. Die alkoholische Lösung reagierte sauer. Die beim Erkalten eintretende Krystalli-

sation gewährt einen ganz besonders schönen Anblick. Es treten hier und da vereinzelt Krystallaggregate auf, die sich alsbald vermehren und schließlich die ganze Flüssigkeit in eine dichte Krystallmasse verwandeln. Mikroskopisch sieht man feine lange Nadeln, die teils büschelförmig angeordnet sind, teils wirt durcheinander liegen. Abgesaugt bilden sie eine glänzende zerreibliche Masse. Es wurden mehrere Präparate dargestellt, die sich alle ebenso verhielten und alle bei 77—78° schmolzen. Denselben Schmelzpunkt zeigte auch ein Präparat, das nicht aus Alkohol, sondern aus Aceton umkrystallisiert war, bei dessen Darstellung also die Gefahr einer teilweisen Veresterung ausgeschlossen war. Die Säure entfärbt Bromlösung nicht. Zur Analyse kamen 2 Präparate verschiedener Darstellung.

	1.	2.	$C_{24}H_{48}O_2$	$C_{25}H_{50}O_2$	$C_{26}H_{52}O_2$
C	78,52	78,52	78,26	78,53	78,79
H	13,01	13,25	13,04	13,09	13,13

1. 0,0712 g gaben 0,2050 g  $CO_2$  u. 0,0834 g  $H_2O$  = 78,52% C u. 13,01% H  
 2. 0,0778 „ „ 0,2240 „ „ „ 0,0928 „ „ „ = 78,52% „ „ 13,25% „

Die Molekulargewichtsbestimmung wurde in alkoholischer und in petrolätherischer Lösung durch Titration mit  $n/_{10}$ -alkoholischer Kalilauge<sup>1)</sup> unter Benutzung von Phenolphthalein vorgenommen. Für die Bestimmung in petrolätherischer Lösung diente ein aus Aceton umkrystallisiertes Präparat, das nicht mit Alkohol in Berührung gekommen war.

1.	2.	3.	$C_{24}H_{48}O_2$	$C_{25}H_{50}O_2$	$C_{26}H_{52}O_2$
376	369	371	368	382	396

1. 0,2710 g verbrauchten 7,2 ccm  $n/_{10}$ -KOH (Alkohol)

2. 0,3730 „ „ 10,1 „ „ „

3. 0,4009 „ „ 10,8 „ „ (Petroläther).

Zur Darstellung des Silbersalzes wurde die warme alkoholische Lösung der Säure nach Zufügung von etwas alkoholischem Ammoniak mit warmer alkoholischer Silbernitrat-

<sup>1)</sup> Die benutzte  $n/_{10}$ -Lauge gab bei der Titration gewogener Mengen Palmitinsäure und Eucasäure genau stimmende Werte.

lösung gefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit heißem Alkohol ausgewaschen, mit Alkohol ausgekocht, wieder filtriert und im dunklen Exsikkator getrocknet. Er war auch nach dem Trocknen rein weiß. Er enthielt 22,59% Ag.

0,1284 g hinterließen beim Glühen 0,0290 g.

$C_{24}H_{47}O_2Ag$  enthält 22,7% Ag,  $C_{25}H_{49}O_2Ag$  22,1% Ag.

Auf Grund der Ergebnisse der Titration und der Silberbestimmung (diese wurde allerdings mit einer sehr geringen Menge ausgeführt) muß man es für wahrscheinlich halten, daß der Säure die Formel  $C_{24}H_{48}O_2$  zukommt. Ich gebe ihr den Namen Kerasinsäure. Versuche, sie mit einer der in der Literatur beschriebenen Säuren der gleichen Zusammensetzung zu identifizieren, sind noch nicht unternommen worden. Die Untersuchungen über die Kerasinsäure werden fortgesetzt.

Zucker. Er wurde noch nicht identifiziert, auch habe ich noch nicht geprüft, ob sich neben ihm in der wässrigen Lösung noch etwas anderes befindet. Indessen ist es natürlich höchst wahrscheinlich, daß Galaktose vorliegt; daß es sich um rechtsdrehenden Zucker handelt, wurde festgestellt.

Die von mir untersuchte Cerebrosidfraktion enthält also dieselbe Base und vermutlich auch denselben Zucker wie das Cerebron, aber eine andere Säure. Die kleine Menge Cerebronsäure, welche erhalten wurde, dürfte auf eine Verunreinigung mit Cerebron (oder Phrenosin) zurückzuführen sein, ebenso wie die schwache Rechtsdrehung, welche die Fraktion zeigte.

Eine Verbindung, welche aus 1 Molekül Sphingosin, 1 Molekül Galaktose und 1 Molekül Kerasinsäure weniger 2 Moleküle Wasser besteht, hat die Formel  $C_{47}H_{91}NO_8$  und enthält 70,77% C, 11,42% H und 1,76% N, Werte, welche mit den von mir für die Kerasinfraktion gefundenen (S. 49) stimmen würden.

Thudichum<sup>1)</sup> hat das von ihm zuerst dargestellte Kerasin auch der Spaltung unterworfen. Er hat dabei eine Base als Sulfat erhalten, von der er auf Grund einer Analyse annimmt, daß es sich um ein mit etwas Sphingosin verunreinigtes Psy-

<sup>1)</sup> Die chemische Konstitution des Gehirns, Tübingen 1901.

cholin handele. Psychosin ist nach ihm eine aus Sphingosin und Cerebrose (Galaktose) bestehende Verbindung. Aufgeklärt ist die Natur des isolierten und analysierten Sulfats nicht. Von der bei der Spaltung auftretenden Säure sagt er an einer Stelle (S. 321), daß sie Neurostearinsäure (die Säure, die er aus Phrenosin gewonnen hat) sei. An einer andern Stelle (S. 219) bemerkt er: Der spezifische Unterschied zwischen Phrenosin und Kerasin scheint mir auf das Radikal der Fettsäure zurückzuführen zu sein, von welcher noch nicht bewiesen ist, daß sie mit der Fettsäure aus Phrenosin, der Neurostearinsäure mit Schmelzpunkt  $84^{\circ}$ , identisch ist.

Levene und Jacobs<sup>1)</sup> haben bei der Untersuchung der Fettsäuren, die bei der Spaltung des Cerebrosidgemisches gewonnen wurden, neben der Cerebronsäure eine Substanz in verhältnismäßig kleiner Menge erhalten, deren Kohlenstoffgehalt 77—78,5 und deren Wasserstoffgehalt etwa 12,5—13,0% betrug. Sie haben daran gedacht, daß es sich um eine Säure von der Zusammensetzung  $C_{24}H_{48}O_2$  handele. Indessen stimmte der niedrige Säurewert nicht zu dieser Annahme. Sie sagen zum Schluß: «Die Versuche, bei der Hydrolyse des Cerebrosidgemisches eine Säure zu entdecken, welche nicht Cerebronsäure war, sind fehlgeschlagen. Wenn eine solche vorhanden ist, so handelt es sich unzweifelhaft um eine Verunreinigung, die von einer Substanz stammt, welche kein Cerebrosid ist.»

Meine Untersuchungen in der Cerebrosidgruppe werden fortgesetzt.

---

<sup>1)</sup> Journ. of Biol. Chemistry Vol. 12 p. 389 (1912).