

202. Ein Beitrag zur Fettsäurezusammensetzung der Cerebroside, Sphingomyeline und Lecithine aus menschlichem Hirn

von **Karl Bernhard** und **Peter Lesch**

Herrn Prof. Dr. ALEXANDER VON MURALT zum 60. Geburtstag

(4. VII. 63)

Seit den Arbeiten von KLENK¹⁾ über nichtsubstituierte und hydroxylierte Säuren des Gehirnes und der Einführung der Gas-Chromatographie wurden verschiedentlich Untersuchungen über die Fettsäuren der Hirnlipide mitgeteilt. BAKER²⁾ stellte bei den hydrolysierten Gesamtlipiden von zwei menschlichen Gehirnen hinsichtlich der einzelnen Hirnregionen keine merklichen Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung fest. CARROL³⁾ untersuchte letztere von Sphingolipidgemischen, und BIRAN & BARTLEY⁴⁾ bestimmten die Fettsäure-Verteilung von Lipiden bei Ratten im Hirn, Hirn-Mitochondrien und -Mikrosomen.

Tabelle 1. Fettsäurezusammensetzung der Cerebroside aus verschiedenen Regionen eines normalen menschlichen Gehirns (% Methyl ester)

C-Zahl	unsubstituierte Säuren				C-Zahl	Hydroxy-Säuren			
	Grosshirn		Zwischenhirn	Mittelhirn		Grosshirn		Zwischenhirn	Mittelhirn
	Rinde	Mark				Rinde	Mark		
14:0	0,9	0,3	0,9	0,5	14:0	1,2	0,2	0,5	0,4
16:0	7,3	3,9	6,2	6,9	14:1	4,4	2,0	1,5	1,7
16:1	0,4	0,2	0,3	0,1	15:0	1,1	—	0,2	—
18:0	25,7	13,8	16,9	25,4	16:0	3,6	0,3	2,7	4,1
18:1	7,2	1,9	8,3	4,6	16:1	1,7	3,6	0,6	0,5
20:0	0,4	0,8	1,6	1,4	17:0	0,7	0,1	—	—
20:1	0,3	0,2	1,0	0,7	17:1	0,8	—	—	—
21:1	0,9	—	1,6	0,3	18:0	1,5	0,9	1,9	1,5
22:0	0,7	2,3	2,4	0,5	18:1	0,9	1,1	0,6	0,3
22:1	0,5	0,3	0,3	0,3	20:0	—	0,2	0,2	0,3
23:0	7,3	4,4	4,4	3,7	22:0	5,9	5,1	7,4	7,8
23:1	0,3	0,7	0,4	0,3	23:0	14,2	10,5	15,1	13,2
24:0	9,1	13,0	15,2	14,1	24:0	28,6	22,4	31,3	31,9
24:1	25,8	39,9	25,7	31,8	24:1	26,1	46,5	24,8	28,7
25:0	2,6	4,9	3,5	1,9	25:0	5,7	3,4	7,3	5,8
25:1	7,3	9,0	6,2	4,7	25:1	3,7	3,2	5,6	3,1
26:1	3,3	4,5	5,1	2,8	26:0	—	0,6	0,4	0,7

¹⁾ E. KLENK & W. BONGARD, Z. physiol. Chem. 291, 104 (1952); E. KLENK & H. FAILLARD, *ibid.* 292, 268 (1953).

²⁾ R. W. R. BAKER, Biochem. J. 79, 642 (1961).

³⁾ K. K. CARROL, J. Lipid Research 3, 263 (1962).

⁴⁾ L. A. BIRAN & W. BARTLEY, Biochem. J. 79, 159 (1961).

Tabelle 2. Fettsäurezusammensetzung der Sphingomyeline aus verschiedenen Regionen eines normalen menschlichen Gehirns (% Methyl ester)

C-Zahl	Hirn-Regionen				C-Zahl	Hirn-Regionen			
	Grosshirn		Zwischenhirn	Mittelhirn		Grosshirn		Zwischenhirn	Mittelhirn
	Rinde	Mark				Rinde	Mark		
14:0	0,7	0,6	0,2	0,7	22:1	0,5	1,3	0,2	0,5
16:0	4,4	4,0	2,6	6,1	23:0	0,6	4,1	2,5	2,3
16:1	0,4	0,4	0,3	0,2	23:1	0,3	1,6	0,7	0,6
18:0	56,8	33,8	41,8	42,3	24:0	1,6	9,6	5,2	4,9
18:1	0,7	1,2	0,8	4,4	24:1	21,2	30,7	32,3	27,1
20:0	1,1	0,9	0,9	2,0	25:0	0,5	1,2	1,9	2,0
20:1	–	–	–	0,2	25:1	4,1	4,2	4,3	2,4
21:1	4,4	1,1	1,3	0,4	26:1	2,1	3,4	3,1	2,2
22:0	0,7	1,9	1,9	2,0					

Tabelle 3. Fettsäurezusammensetzung der Lecithine aus verschiedenen Regionen eines normalen menschlichen Gehirns (% Methyl ester)

C-Zahl	Grosshirn		Zwischenhirn	Mittelhirn
	Rinde	Mark		
14:0	0,7	0,9	1,1	0,8
15:0	0,2	–	0,4	–
16:0	47,7	33,3	35,6	49,4
16:1	4,4	2,4	6,1	–
18:0	10,1	10,5	10,6	7,4
18:1	34,7	52,0	43,0	39,6
20:1	0,5	0,6	2,1	–
22:1	1,2	–	1,1	1,5
23:1	0,5	0,3	0,4	1,3

Wir haben kürzlich Verfahren zur annähernd quantitativen Isolierung reiner Cerebroside⁵⁾ und Sphingomyeline⁶⁾ aus menschlichen und aus Ratten-Hirnen mitgeteilt.

Im vorliegenden werden mit Hilfe dieser Methoden ausgeführte Fettsäureanalysen der reinen Cerebroside, Sphingomyeline und Lecithine aus vier Regionen, d. h. der Grosshirn-Rinde, des Grosshirn-Marks, des Zwischenhirns und des Mittel- und Rautenhirns eines normalen menschlichen Hirns mitgeteilt (Tab. 1–3).

Experimentelles. – Das untersuchte Gehirn eines 69 jährigen Mannes zeigte keine pathologischen Veränderungen. Wir extrahierten zur Gewinnung der Gesamtlipide Proben der erwähnten Hirnregionen nach FOLCH. Die Grosshirnrinde enthielt, berechnet auf das Feuchtgewicht, 5,54, das Grosshirnmark 14,83, das Zwischenhirn 11,41 und das Mittelhirn 11,88% Reinpilide. Für die Aufarbeitung, d. h. für die Abtrennung der einzelnen Fraktionen standen aus der Grosshirnrinde 1,94, aus dem Mark 5,19, aus dem Zwischenhirn 2,63 und dem Mittelhirn 5,67 g dieser Reinpilide zur Verfügung. Daraus wurden nach den bereits mitgeteilten Verfahren eine Sphingomyelin-Lecithin- und eine Rohcerebrosidfraktion abgetrennt. Aus der letzteren gewannen wir reine

⁵⁾ K. BERNHARD, A. HANY, L. HAUSHEER & W. PEDERSEN, *Helv.* 45, 1298 (1962).

⁶⁾ L. HAUSHEER, W. PEDERSEN & K. BERNHARD, *Helv.* 46, 601 (1963).

Cerebroside und deren Fettsäuren als Methylester. Die Sphingomyelin-Lecithinfraktion trennten wir in Lecithinfettsäuren und rohe Sphingomyeline. Ihre Reinigung und Umwandlung der Fettsäuren in die Methylester vollzog sich wie kürzlich angegeben. Alle Gesamtfettsäuren wurden als Methylester bzw. im Falle der Hydroxysäuren als Methyläther gas-chromatographisch in einem Instrument von PYE oder PERKIN-ELMER analysiert. Bei der Auswertung der Chromatogramme erfolgte die Identifizierung gewisser, nur geringfügig vorkommender Komponenten mit hoher, bzw. ungerader C-Zahl nur auf Grund vorhandener Erfahrungen, nicht aber durch Testsubstanzen. Alle Angaben für die hauptsächlichsten Komponenten sind indessen gesichert, indem zumeist dieselben Fraktionen mit verschiedenen stationären Phasen, nämlich Äthylenglykol- bzw. Butylenglykol-bernsteinsäure-polyester analysiert wurden.

Die aus 1 g der Reinlipide erhaltenen Fettsäuremethylester sind in mg in Tabelle 4 angegeben.

Tabelle 4. Fettsäuremethylester aus je 1 g Reinlipiden

Fettsäuremethylester mg	Grosshirn		Zwischen- hirn	Mittel- hirn
	Rinde	Mark		
<i>Cerebroside</i> unsubst. Säuren, total	41,7	50,8	50,3	50,6
ungesättigt	22,5	28,7	24,5	23,1
gesättigt	19,2	22,1	25,8	27,5
<i>Hydroxysäuren</i> , total	55,0	40,8	59,3	54,1
ungesättigt	20,7	23,0	19,5	18,6
gesättigt	34,3	17,8	39,8	35,5
<i>Sphingomyeline</i> , total	19,3	38,5	19,3	23,5
ungesättigt	6,5	16,9	8,3	9,0
gesättigt	12,8	21,6	11,0	14,8
<i>Lecithine</i>	151,8	89,0	88,8	74,8

Diskussion und Zusammenfassung der Ergebnisse. – Die unsubstituierten *Cerebrosidfettsäuren* aus der Grosshirnrinde und aus dem Mittelhirn bestanden zu einem Viertel aus Stearinsäure; Grosshirnmark und Zwischenhirn enthielten mit 14 und 17% deutlich weniger. Viel kleiner waren die Ölsäuregehalte und für das Mark mit 1,9% auffallend tief. Auch bei den C_{23} -Säuren lagen die Werte für die Tricosansäure höher als für die entsprechende ungesättigte Säure. Umgekehrte Verhältnisse fanden wir für die C_{24} -Säuren. Die Lignocerinsäure kam zu 9–15% vor, die Nervonsäure in der Rinde und im Zwischenhirn zu 26%, im Mark zu 40 und im Mittelhirn zu 32%. Für die Tricosansäure waren die Werte aber nicht viel höher als für die ungesättigte Verbindung. Bezüglich der nichtsubstituierten Cerebrosidfettsäuren verhält sich das Grosshirnmark demnach verschieden von den andern geprüften Hirnregionen. Das Gemisch der *Hydroxysäuren* bestand in der Hauptsache aus Cerebronsäure und Hydroxynervonsäure. Von der ersteren enthielten Zwischen- und Mittelhirn 32%, die Grosshirn-Rinde 28, das Grosshirn-Mark aber nur 22%. Die Hydroxynervonsäure erreichte in den Cerebroside aus letzterem einen Wert von 46% gegenüber 26–29% in den andern Regionen. Auf die α -Hydroxy-Tricosansäure entfielen 10–15%. Auch bezüglich der Hydroxysäuren unterscheiden sich die Cerebroside aus dem Grosshirn-Mark deutlich von denen anderer Hirnabschnitte.

Die Fettsäuren der *Sphingomyeline* bestanden zu einem grossen Teil, nämlich zu 57% (Grosshirn-Rinde) bzw. zu 34% (Mark) aus Stearinsäure. Sehr stark vertreten – 22–32% – war die Nervonsäure, welche im Mark reichlicher vorkam als in der Rinde. Die meisten übrigen nachgewiesenen Säuren partizipierten nur in geringem Ausmasse,

und es liessen sich hinsichtlich ihres Vorkommens in den Spingomyelinen aus einzelnen Hirnabschnitten keine klaren Unterschiede feststellen.

Das Gemisch der *Lecithinfettsäuren* war erfahrungsgemäss viel weniger reichhaltig zusammengesetzt, es dominierten vor allem Palmitin- und Ölsäure, wobei das Mark von letzterer 52, von der Palmitinsäure 33% aufwies und sich jedenfalls von der Rinde diesbezüglich unterschied.

Unsere Untersuchungen haben demnach deutlich ergeben, dass die Fettsäurezusammensetzung reiner Lipidfraktionen aus menschlichem Hirn bezüglich ihrer Herkunft quantitative Unterschiede aufweist, die jedenfalls für das Grosshirn-Mark bei dem untersuchten Material deutlich in Erscheinung traten.

Die mitgeteilten Untersuchungen wurden mit Mitteln des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS durchgeführt, wofür wir bestens danken.

Physiologisch-Chemisches Institut
der Universität Basel

203. Über die Inhaltstoffe von *Zizyphus oenoplia* MILL.

1. Mitteilung: Isolierung der Inhaltstoffe

von E. L. Ménard, J. M. Müller, A. F. Thomas¹⁾;
S. S. Bhatnagar und N. J. Dastoor²⁾

(5. VI. 63)

Pflanzenmaterial der Gattung *Zizyphus* JUSS. (Familie der *Rhamnaceae*) wurde schon in den alten griechischen, arabischen, persischen, indischen und chinesischen Arzneimittelsystemen therapeutisch verwendet. Bis in unsere Zeit bedient sich auch die Volksheilkunde vieler Länder der Tropen- und Subtropen-Zonen der aus diesen Pflanzen hergestellten Zubereitungen³⁾.

So sollen die «Jujube» oder «Unnab» genannten steinfruchtartigen, schleimhaltigen Früchte u. a. als Expektorantien, Blutreinigungsmittel, milde Laxantien und bei Gallenleiden wirken. Ausserdem wird in chinesischen⁴⁾ und japanischen⁵⁾ Arbeiten wiederholt auf ihre nervenberuhigende Wirkung hingewiesen. Die Blätter einzelner Arten (z. B. *Z. vulgaris* LAM.⁶⁾) üben, wenn zerkaut, eine bis 10 Minuten anhaltende anästhesierende Wirkung auf der Zunge aus. Sie sollen ausserdem, wie auch die bitter schmeckenden, tanninhaltigen Stamm- und Wurzelrinden, u. a. zur Wundheilung und gegen Diarrhöe Verwendung finden³⁾.

Die weite Verbreitung dieser therapeutisch wertvollen Pflanzengattung gab wiederholt Anlass zur chemischen Untersuchung.

¹⁾ Gegenwärtige Adresse: FIRMENICH & Co., Genève.

²⁾ Vgl. N. J. DASTOOR, Dissertation zur Erlangung des Grades eines Master of Science, Caius Research Laboratory, St. Xavier's College, Bombay, 1960; gegenwärtige Adresse: Universität Zürich, Organisch-chemisches Institut (Prof. H. SCHMID).

³⁾ Vgl. dazu: R. N. CHOPRA, S. L. NAYAR & I. C. CHOPRA, Glossary of Indian Medicinal Plants, New Delhi 1956, p. 261; K. R. KIRTIKAR & B. D. BASU, Indian Medicinal Plants, Allahabad 1935, 2. Auflage, Bd. I, p. 588.

⁴⁾ T.-H. TANG & Y.-H. CHAO, J. chinese chem. Soc. 4, 278 (1936); Chem. Abstr. 31, 209⁸ (1937).

⁵⁾ R. KAWAGUTI & K. W. KIM, J. pharmaceut. Soc. Japan 60, 171, 343, 595 (1940); Chem. Abstr. 35, 1396⁸, 3997¹ (1941).