

Chf). Die das Tetrahydroderivat **9** enthaltenden Fr.-Rückstände der beiden obigen SiO_2 - AgNO_3 -Chromatographien wurden vereinigt (300 mg) und an 110 g SiO_2 «МЕРСК» chromatographiert (Fr.-Sammeler, Elution mit AcOAc-Pä-(7:3) , Fr. zu 8 ml pro $\frac{1}{2}$ Std.). Aus den ersten 26 Fr. konnten 54 mg **9** gewonnen werden. Aus An-Ae 45 mg feine Nadelchen vom Smp. 161–164°. Die Fr. 27–28 enthielten **9** und **7**. Aus den Eindampfrückständen der Fr. 29–41 liessen sich noch 100 mg reines **7** gewinnen. Aus dem Hydrierungsansatz von 1,125 g **1** konnten somit u. a. 635 mg reines **7** erhalten werden.

O-Acetyl-14-desoxy-14 α H-digitoxigenin **8**. Acetylierung von 28 mg **7**, Smp. 226–228°, in Acetanhydrid-Pyridin gab 35 mg rohe Acetylverbindung **8**. Aus An 25 mg feine Prismen vom Smp. 195–197°; Misch-Smp. mit authentischem **8**²) ohne Depression; $[\alpha]_D^{25} = +12^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2$ in Chf).

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird ein reproduzierbares Verfahren zur Bereitung von reinem 14-Desoxy-14 α H-digitoxigenin aus β -Anhydrodigitoxigenin beschrieben.

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] B. T. BROWN & S. E. WRIGHT, J. Pharmacy & Pharmacol. *13*, 262 (1961).
- [2] S. SMITH, J. chem. Soc. *1935*, 1050.
- [3] F. HUNZIKER & T. REICHSTEIN, Helv. *28*, 1472 (1945).
- [4] T. WADA, Chem. pharmaceut. Bull. (Japan) *13*, 312 (1965).
- [5] Exper. Teil dieser Arbeit.
- [6] H. HELFENBERGER & T. REICHSTEIN, Helv. *31*, 1470 (1948).
- [7] A. WINDAUS & G. STEIN, Ber. deutsch. chem. Ges. *61*, 2436 (1928).
- [8] S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. *32*, 939 (1949).
- [9] W. A. JACOBS & R. C. ELDERFIELD, J. biol. Chemistry *113*, 611 (1936).
- [10] H. M. E. CARDWELL & S. SMITH, J. chem. Soc. *1954*, 2012.
- [11] A. RHEINER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. *35*, 687 (1952).
- [12] P. ST. JANIAC, EK. WEISS, J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. *46*, 374 (1963).
- [13] A. WINDAUS & C. FREESE, Ber. deutsch. chem. Ges. *58*, 2503 (1925).
- [14] Dissertation P. ST. JANIAC, Basel 1962.
- [15] L. J. MORRIS, Chemistry & Ind. *1962*, 1238.
- [16] B. DE VRIES, Chemistry & Ind. *1962*, 1049; J. Amer. Oil Chem. Soc. *40*, 184 (1963).

135. Die Neutrallipide aus Hirnen von Früh- und Neugeburten

von Peter Lesch, Sylvia Meier und Karl Bernhard

(23. III. 66)

Zahlreiche Organe werden mit zunehmendem Alter wasserärmer und erfahren Änderungen ihres Lipid- und Proteinbestandes. Das gilt auch für das Hirn, dessen Wassergehalt schon im ersten Dezenium abnimmt, während der Lipidanteil ansteigt [1].

In Fortsetzung unserer Untersuchungen [2] über die Lipide des menschlichen Hirns haben wir sieben Organe von Neugeburten und acht Organe von Frühgeburten untersucht. Letztere kamen alle nach 7–8 Monaten zur Welt und starben im Verlauf von 1–2 Tagen infolge Lebensschwäche, Aspirations-Bronchopneumonien usw. Keines der

Hirne zeigte pathologisch-anatomische Veränderungen. Eine Trennung in verschiedene Regionen, wie wir sie bei Organen Erwachsener vornahmen, war auf dieser Stufe der Entwicklung schwierig; wir begnügten uns mit einer Unterteilung in Grosshirn und Kleinhirn. Bei den Frühgeburten war in vier Fällen auch diese Auftrennung nicht durchführbar. Es wurden nach den bereits angegebenen Verfahren die Reinlipide gewonnen und die Trockensubstanz bestimmt (Tab. 1).

Tabelle 1. *Gesamt-Trockensubstanz und Reinlipide in Prozenten des Frischgewichtes*
(Mittelwerte von 8 bzw. 7 Hirnen)

		Frühgeburten		Neugeburten	
		Grosshirn	Kleinhirn	Grosshirn	Kleinhirn
Reinlipide	\bar{x}	2,4	2,8	2,8	2,8
	<i>s</i>	0,08	0,51	0,52	0,55
Gesamttrockensubstanz	\bar{x}	10,5	12,2	12,1	13,8
	<i>s</i>	0,64	0,66	1,9	2,9

Die erhaltenen Werte sind für beide Gruppen ähnlich, aber sehr verschieden von den Verhältnissen bei Erwachsenen, wo bei den Reinlipidgehalten die Trockensubstanz um einen Faktor 2–3 höher liegt. Sowohl bei den Hirnen der Früh- als der Neugeburten sind die Reinlipide hell- bis dunkelbraun und viskos. Sie machen 20–25% der Trockensubstanz aus. Die Aufteilung in neutrale und saure Lipide (Tab. 2) führte zu ähnlichen Werten wie bei den Organen Erwachsener. Bei den Frühgeburten ergaben sich im Mittel 81,5% neutrale und 16% saure Anteile, bei den Neugeburten aus dem Grosshirn 84% neutrale und 15% saure Lipide und, davon signifikant verschieden, aus dem Kleinhirn 81% und 17%.

Die Aufteilung der Reinlipide ist aus Tabelle 3 ersichtlich. Die gelbliche Cholesterinfraktion erweist sich im Dünnschichtchromatogramm als uneinheitlich. Mit 27–30% ist sie höher als bei den Altershirnen. Die Cerebroside sind in den jugendlichen Organen nur geringfügig vertreten [3] und sind deshalb schwierig zu isolieren; die Abtrennung an der ammoniakalischen Silicagelsäule gelingt nicht sauber. Bei der Ermittlung ihres Anteils berücksichtigen wir daher den nach der Anthronmethode bestimmten Zuckergehalt und die Menge der nach Verseifung erhaltenen Fettsäuren. Früh- und Neugeburten verhalten sich nicht verschieden, zwischen Grosshirn und Kleinhirn ergeben sich aber signifikante Unterschiede ($P < 0,001$); ersteres weist nur äusserst geringe Cerebrosidegehalte auf. Auch die Sphingomyeline sind als Ausdruck nur geringer Myelinisierung wenig vertreten. Grosshirn und Kleinhirn verhalten sich annähernd identisch. Verglichen mit den Altershirnen sind wie bei den Cerebroside die

Tabelle 2. *Gehalte der Reinlipide an neutralen (NL) und sauren (SL) Lipiden*
(mg/g; Mittelwerte)

		Grosshirn (GH)		Kleinhirn (KH)	
		NL	SL	NL	SL
Frühgeburten	\bar{x}	812	170	825	153
	<i>s</i>	16,0	12,5	28,9	19,2
Neugeburten	\bar{x}	841	147	809	176
	<i>s</i>	25,5	11,7	32,9	25,1

Tabelle 3. Gehalte der Reinlipide an Cholesterin, Cerebrosiden, Sphingomyelinen, Kephallinen und Lecithinen (mg/g; Mittelwerte)

	Cholesterin		Cerebroside		Sphingomyeline		Col.-Kephaline		Lecithine	
	GH	KH	GH	KH	GH	KH	GH	KH	GH	KH
A. Frühgeburten										
\bar{x}	286	308	5	39	29	42	134	120	347	311
s	21,2	23,9	3,6	8,8	0,1	7,3	26,7	25,4	19,5	11,6
B. Neugeburten										
\bar{x}	272	266	8	41	34	43	162	156	337	289
s	24,7	19,3	4,7	11,5	12,0	10,2	15,3	18,4	23,3	20,4

Unterschiede aber sehr auffällig. Der Gehalt an Colamin-Kephallinen schwankt (vielleicht auch methodisch bedingt) stark. Eindeutige Unterschiede für die beiden Hirnanteile sind nicht feststellbar. Die Hirne der Frühgeburten scheinen etwas weniger als die Neugeburten zu enthalten. Den Hauptanteil an den Reinlipiden haben mit 30–35% die Lecithine. Das Grosshirn enthält sowohl bei den Früh- als Neugeburten davon mehr als das Kleinhirn ($P < 0,01$ bzw. $< 0,005$).

Tabelle 4. Prozentuale Zusammensetzung der Cerebrosidfettsäuren, Mittelwerte aus 5 Hirnen von Frühgeburten und 5 Hirnen von Neugeburten

Unsubstituierte Fettsäuren			2-Monohydroxyfettsäuren		
C-Zahl: Δ	Frühgeburten	Neugeburten	C-Zahl: Δ	Frühgeburten	Neugeburten
14:0	0,8	0,5	14h:0	3,0	7,3
14:1	0,2	<0,1	14h:1	5,9	0,1
15:0	0,3	0,3	15h:0	0,6	0,8
15:1	<0,1	<0,1	15h:1	1,7	1,7
16:0	11,0	14,7	16h:0	3,8	6,7
16:1	1,8	2,0	16h:1	2,5	1,0
17:0	0,1	0,3	17h:0	0,2	0,7
17:1	1,4	<0,1	17h:1	2,0	<0,1
18:0	45,7	37,9	18h:0	6,2	3,4
18:1	17,1	11,6	18h:1	2,4	0,7
19:0	<0,1	<0,1	19h:0	0,2	0,2
20:0	2,5	5,1	20h:0	2,6	0,6
20:1	1,6	1,9	20h:1	<0,1	0,6
21:0	<0,1	0,7	21h:0	1,4	0,9
21:1	<0,1	0,5	21h:1	<0,1	<0,1
22:0	0,6	1,7	22h:0	12,2	11,4
22:1	1,3	2,8	22h:1	0,4	2,7
23:0	<0,1	0,5	23h:0	5,0	5,6
23:1	<0,1	3,5	23h:1	0,5	0,4
24:0	2,8	5,6	24h:0	27,3	28,9
24:1	5,5	2,8	24h:1	12,5	17,0
25:0	<0,1	0,5	25h:0	1,6	1,9
25:1	<0,1	3,7	25h:1	<0,1	0,4
26:0	<0,1	0,5	26h:0	2,1	1,9
26:1	<0,1	<0,1	26h:1	5,9	5,1
gesättigt	69,0	71,2	gesättigt	66,2	70,3
ungesättigt	31,0	28,8	ungesättigt	33,8	29,7

Neben der Lecithin- ist die Cholesterin-Fraktion am grössten; bei den Frühgeburten weist das Kleinhirn mehr Cholesterin auf als bei den Neugeburten.

Die aus den verschiedenen Rein-Fractionen gewonnenen Fettsäuren wurden als Methylester analysiert. An Cerebrosidfettsäure-methylestern erhielten wir bei den Frühgeburten aus 1 g der Reinlipide nur 49 mg, 74% davon waren Ester nicht substituierter Säuren, 22% Ester von Hydroxy-Säuren. Aus den Hirnen der Neugeborenen ergaben sich aus 1 g der Reinlipide 70 mg Cerebrosidfettsäure-methylester, also etwas mehr, und zwar 65% von unsubstituierten und 28% von Hydroxy-Säuren. Ein auch nur geringer Alterszuwachs von etwa zwei Monaten führt demnach bereits zu einer Cerebrosid-Zunahme. Nach den Durchschnittswerten der gas-chromatographischen Analyse (Tab. 4) bestehen sowohl die nicht substituierten als die Hydroxysäuren annä-

Tabelle 5

Prozentuale Zusammensetzung (% Methylester; Mittelwerte) der Fettsäuren aus den Sphingomyelinen

C-Zahl: Δ	Frühgeburten		Neugeburten	
	GH	KH	GH	KH
14:0	0,7	1,3	0,7	1,4
14:1	0,1	0,1	<0,1	<0,1
15:0	<0,1	0,1	<0,1	<0,1
15:1	0,3	0,4	0,4	0,4
16:0	9,9	14,5	8,4	11,9
16:1	0,5	0,7	0,3	0,5
17:0	0,1	<0,1	0,1	0,1
17:1	0,1	<0,1	0,2	0,4
18:0	79,1	72,3	80,7	71,4
18:1	1,2	2,3	1,0	1,6
19:0	0,1	0,1	<0,1	<0,1
20:0	1,5	1,2	1,5	1,8
20:1	<0,1	0,2	<0,1	0,1
21:0	0,1	<0,1	<0,1	0,1
21:1	<0,1	<0,1	0,4	0,6
22:0	0,9	1,3	1,3	1,8
22:1	<0,1	<0,1	0,1	0,1
23:0	0,3	<0,1	0,3	0,4
23:1	0,1	0,2	<0,1	0,1
24:0	1,8	0,8	1,3	1,8
24:1	3,2	4,9	3,3	5,5
gesättigt	94,5	91,5	94,3	90,7
ungesättigt	5,5	8,5	5,7	9,3

Tabelle 6. Prozentualer Anteil der Palmitin-, Stearin-, Öl- und Nervensäure am Gemisch der Sphingomyelin-Fettsäuren aus Frühgeburten- und Neugeburten-Hirn (Mittelwerte und Streuungen)

C-Zahl: Δ		16:0		18:0		18:1		24:1	
		GH	KH	GH	KH	GH	KH	GH	KH
Hirn-Anteil	\bar{x}	9,9	14,5	79,1	72,3	1,2	2,3	3,2	4,9
	s	2,3	2,4	8,2	4,7	1,1	0,6	1,6	2,3
Neugeburten	\bar{x}	8,4	11,9	80,7	71,4	1,0	1,6	3,3	5,5
	s	2,2	4,8	7,7	12,9	0,9	1,5	2,2	2,7

Tabelle 7. *Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Colamin-Kephalinen u. Lecithinen (Mittelwerte)*

C-Zahl: A	Colamin-Kephaline				Lecithine			
	Frühgeburten		Neugeburten		Frühgeburten		Neugeburten	
	GH	KH	GH	KH	GH	KH	GH	KH
14:0	0,4	0,5	0,5	0,6	3,4	2,3	2,7	2,2
15:0	<0,1	<0,1	0,1	0,3	<0,1	<0,1	<0,1	0,2
15:1	0,1	0,1	0,3	0,3	<0,1	<0,1	0	<0,1
16:0	15,0	12,9	11,5	12,5	61,9	59,8	58,0	52,5
16:1	1,8	2,2	1,6	2,7	6,4	6,2	6,1	6,8
17:0	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	<0,1	0,3	0,2
17:1	<0,1	<0,1	0	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
18:0	49,5	41,5	46,8	37,2	6,7	7,1	8,7	9,1
18:1	18,0	16,0	13,3	20,2	17,8	20,4	20,0	23,9
18:2	0,7	0,8	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,5
18:3	0,2	0,7	0,5	1,2	<0,1	<0,1	0	0
20:0	<0,1	0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1	0	<0,1
20:1	0,5	0,4	0,6	2,0	0,2	0,3	0,3	0,5
20:2	0,1	0,5	0,2	0,8	0	<0,1	<0,1	<0,1
20:3	0,6	0,9	0,8	0,9	0,2	<0,1	0,3	0,4
20:4	6,9	11,0	9,1	9,0	2,3	2,4	2,9	2,8
20:5	0,1	<0,1	0,3	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,1
22:3	0,1	<0,1	0,3	0,2	<0,1	0	<0,1	<0,1
22:4	3,6	6,9	7,2	6,7	0,4	0,8	0,3	0,7
22:5	0,5	1,4	1,5	0,5	0	0	0	<0,1
22:6	1,6	3,8	4,6	3,8	0,3	0,4	<0,1	0,1
gesättigt	65,1	55,4	59,3	51,1	72,2	69,2	69,7	64,2
1-ungesättigt	20,4	18,6	15,8	25,3	24,4	26,9	26,4	31,2
2-6-ungesättigt	14,4	26,0	24,9	23,6	3,4	3,9	3,9	4,6

Tabelle 8. *Prozentuale Anteile der Palmitin-, Palmitolein-, Stearin- und Ölsäure am Gemisch der Colamin-Kephalin-Fettsäuren und Lecithin-Fettsäuren aus Hirnen von Früh- und Neugeburten (Mittelwerte und Streuungen)*

C-Zahl: A	Hirn-Anteil		16:0		16:1		18:0		18:1	
			GH	KH	GH	KH	GH	KH	GH	KH
Colamin-Kephaline	Frühgeburten	\bar{x}	15,0	12,9	1,8	2,1	49,5	41,5	18,0	16,0
		s	4,5	2,1	0,7	0,6	9,8	6,1	4,7	5,0
	Neugeburten	\bar{x}	11,5	12,5	1,6	2,7	46,8	37,2	13,3	20,2
		s	3,0	1,9	0,3	0,5	13,0	8,0	2,5	2,5
Lecithine	Frühgeburten	\bar{x}	61,9	59,8	6,4	6,2	6,7	7,1	17,8	20,4
		s	4,2	8,7	1,1	2,3	1,2	2,1	4,4	6,0
	Neugeburten	\bar{x}	58,0	52,5	6,1	6,8	8,7	9,1	20,0	23,9
		s	3,7	4,0	0,7	0,8	2,4	1,5	2,3	2,8

hernd zu 70% aus gesättigten und zu 30% aus ungesättigten Säuren. Unter den gesättigten Säuren dominieren Stearinsäure bzw. Nervonsäure. Die Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Sphingomyelinen zeigt Tabelle 5. Das Grosshirn enthält bei diesen Fraktionen mehr Stearinsäure als das Kleinhirn. Das Verhältnis gesättigte Säuren zu ungesättigten Säuren ist bei den Früh- und Neugeburten annähernd gleich. Die Mittelwerte der vier hauptsächlichsten Fettsäure-Komponenten nebst

Streuungen sind in Tabelle 6 angeführt. Es geht deutlich hervor, dass hinsichtlich der Herkunft aus den Hirnen von Früh- bzw. Neugeburten kaum Unterschiede bestehen.

Bei den Colamin-Kephalinen (Tab. 7) überwiegt die Stearinsäure. Das Grosshirn enthält davon mehr als das Kleinhirn. Das Verhältnis gesättigte zu ungesättigten Säuren ist bei den Frühgeburten gegenüber den Neugeburten etwas verschoben.

Die Fettsäuren der Lecithine bestehen hauptsächlich aus Palmitinsäure neben Ölsäure. Bei den Neugeburten fanden wir für das Kleinhirn etwas weniger Stearinsäure als bei den Frühgeburten.

Für die beiden Fraktionen Colamin-Kephaline und Lecithine sind in Tabelle 8 die Mittelwerte für die Säuren 16:0, 16:1, 18:0 und 18:1 und vor allem die Streuungen angeführt. Schliesslich enthält Tabelle 9 die für die Fettsäuren 20:1, 20:4, 22:4 und 22:6 aus den Lecithinen und den Colamin-Kephalinen der acht bzw. sieben untersuchten Hirne gefundenen Gehalte. Trotz wesentlichen Streuungen geht die verschiedenartige Zusammensetzung der beiden Fraktionen hinsichtlich bestimmter höherer Fettsäuren signifikant hervor. Die Colamin-Kephaline aus dem Kleinhirn enthalten signifikant mehr von den Säuren 20:1, 20:4, 22:4 und 22:6 als die Lecithine, was auch für das Grosshirn zumeist zutrifft.

Das untersuchte Material stammte aus dem Pathologischen Institut der Universität Freiburg i. Br., aus dem Pathologischen Institut der Universität Basel und der Pathologie des Kantonsospitals Aarau. Wir sind den Herren Proff. H. ZOLLINGER und A. WERTHEMANN und Herrn Dr. J. P. MÜHLETHALER zu grösstem Dank verpflichtet.

Dem SCHWEIZ. NATIONALFONDS danken wir für die finanzielle Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

SUMMARY

Using already published methods, the authors have determined in eight brains of premature and seven brains of new-born children: dry matter, total lipids, pure lipids, and acid and neutral lipids. The latter have been separated into cerebrosides, sphingomyelins, colamine cephalines, and lecithins.

The brains of new-born and of premature children respectively show differences only in the content of cholesterol and lecithins; both substances occurred in higher amounts in the latter. However, in comparison with adult brains [2], many marked differences appeared; for instance the fatty acids of sphingomyelins from child brain showed more saturated and short-chained compounds than those of adult brains. Only a small amount of cerebrosides was found in child brain, furthermore their content of hydroxylated fatty acids is lower. The amount of palmitic acid is higher in the fatty acids of glycerol phosphatides of prematurely-born brains in comparison with brains of new-born children.

Physiologisch Chemisches Institut
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. SCHUHWIRTH, Z. physiol. Chem. 263, 25 (1940); M. BÜRGER, Fette u. Seifen 60, 253 (1958).
- [2] P. LESCH, S. MEIER & K. BERNHARD, Helv. 49, 791 (1966).
- [3] Y. KISHIMOTO & N. S. RADIN, J. Lipid Res. 1, 79 (1959); L. F. ENG, B. GERSTL, R. B. HAYMAN, Y. L. LEE, R. W. TIETZORT & J. K. SMITH, *ibid.* 6, 135 (1965); P. LESCH & K. BERNHARD, Verh. schweiz. naturf. Ges., Zürich 1964, p. 248.