ETH zürich

ETH Library

Untersuchungen über die Veränderungen, welche Alkaloide durch Pilze und Bakterien erfahren

Doctoral Thesis

Author(s):
Hotz, Max; Hotz, Max

Publication date:
1922

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-000101368

Rights / license:
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

Untersuchungen über die Veränderungen, welche Alkaloide durch Pilze und Bakterien erfahren
und
Beitrag zum Schicksal der Alkaloide im Organismus.

Von der

Eidgenössischen Technischen Hochschule
in Zürich

zur Erlangung der

Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften

genehmigte

Nr. 314. Promotionsarbeit

vorgelegt von

Max Hotz, dipl. Ing.-Chemiker
aus **Oberrieden** (Zürich).

Referent: Herr Prof. Dr. E. Winterstein.
Korreferent: Herr Prof. Dr. W. von Gonzenbach.

Weida i. Thür. 1922.

Druck von Thomas & Hubert
Spezialdruckerei für Dissertationen.

Leer - Vide - Empty

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit.

Vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Wintersemester 1920/21 bis Wintersemester 1922 im agriculturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule ausgeführt.

Ich möchte nicht unterlassen, meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. E. Winterstein,

für das stets gütige Interesse und die vortreffliche Unterstützung bei meinen Untersuchungen auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Inhalts-Verzeichnis.

Seite

I. Untersuchungen über die Veränderungen, welche Alkaloide durch Pilze und Bakterien erfahren 7

Einleitung 7

Anordnung der Versuche 10

Tabellarische Zusammenstellung der Versuche 11

Experimentelles 12

Chinin 13

Chinin und Bacillus Pyocyaneus 13

Chinin und Bacillus Mesentericus 15

Chinin und Aspergillus niger 17

Chinin und Bakterium Coli 18

Chinin und Penicillium glaucum 19

Cocain 20

Cocain und Aspergillus niger 20

Cocain und Penicillium glaucum 20

Cocain und Bacillus Pyocyaneus 21

Cocain und Bacillus Mesentericus 21

Cocain und Bakterium Coli 25

Cocain und Fäulnisbakterien 27

Ecgonin 30

Ecgonin und unbekannter Pilz 30

Ecgonin und Fäulnisbakterien 30

Atropin 32

Atropin und Bakterium Proteus 32

Atropin und Bakterium Coli 34

Atropin und Fäulnisbakterien 35

Morphin 37

Morphin und Bakterium Coli 38

Brucin 40

Brucin und Bakterium Proteus 40

Brucin und Bacillus Mesentericus 41

Seite

Novocain 41
Novocain und Bacillus Pyocyaneus 42
Novocain und Bakterium Proteus 43
Novocain und Aspergillus niger 43
Novocain und Fäulnisbakterien 51

II. Beitrag zum Schicksal der Alkaloide im Organismus 51
Einleitung 51
Literaturangaben über die Frage der Ausscheidung . . . 52
Experimentelles 55
Methoden zur Abscheidung des Novocains 55
Untersuchungen des Harns nach Operationen, bei denen als Anästheticum Novocain verwendet wurde 57
Zur Ausscheidung des Coffeins 60

Zusammenfassung 62

I. Untersuchungen über die Veränderungen, welche Alkaloide durch Pilze und Bakterien erfahren.

Einleitung.

Über den Einfluß, den Alkaloide auf Mikroorganismen ausüben, sind bereits eine Reihe gründlicher Studien ausgeführt worden. Übereinstimmend wurde dabei gefunden, daß Pilze und Bakterien in Alkaloidlösungen sich recht gut entwickeln können, namentlich zeigen Pilze eine auffallende Resistenz, während die Bakterien allgemein bedeutend empfindlicher sind. Sehr weitgehende Untersuchungen über diesen Gegenstand wurden schon in früherer Zeit mit Chinin ausgeführt, systematisch zuerst von Binz[1]) und in neuerer Zeit von Morgenroth[2]), Loeser[3]), Bieling[4]) und Braun und Schaeffer[5]).

Über die Wirkungen, die Bakterien auf Alkaloide ausüben, und die Zersetzungen, welche die letzteren dabei erleiden, sind hingegen bis vor kurzem nur wenige gelegentliche Beobachtungen aufgezeichnet.

Bei der Untersuchung von Leichenteilen, die sechs Monate der Fäulnis ausgesetzt waren, vermochte Panzer[6]) in zwei Fällen unverändertes Morphin abzuscheiden und weist dabei auf die Widerstandsfähigkeit des Alkaloids gegen Fäulnis hin. Bereits praktische Anwendung findet jedoch das Problem bei der Darstellung des Rauchopiums[7]), die sich auf der Erfahrung aufbaut, daß die Nebenalkaloide des Morphins durch Asper-

---

[1]) C. Binz, Pharmakologie (1884), S. 691.

[2]) Morgenroth und Bumke, Deutsche med. Wochenschrift 1914, No. 11.

[3]) Loeser, Zeitschrift für Immunitätsforschung 25, 140 (1916).

[4]) R. Bieling, Biochemische Zeitschrift 85, 188 (1918).

[5]) Braun und Schaeffer, Berliner klinische Wochenschrift 1917, S. 885.

[6]) Theodor Panzer, C. 1902, I, 529.

[7]) Hartwich, Die menschlichen Genußmittel, S. 197—98.

gillus niger zerstört werden, während Morphin selbst unverändert bleibt.

In einem Vortrag „Über einige chemische Reaktionen der Mikroorganismen und ihre Bedeutung für chemische und biologische Probleme", gehalten auf dem achten internationalen Kongreß für angewandte Chemie in New York, berichtet Ehrlich[1]), daß eine Reihe von Alkaloiden eine geeignete Stickstoffquelle für Hefen und Pilze darstellen und mißt diesen Vorgängen künftige Bedeutung zu für die Konstitutionsaufklärung unbekannter Pflanzenbasen. Positive Ergebnisse in dieser Richtung sind auch ihm noch keine bekannt, dagegen sei eine Stelle aus seinem Referat erwähnt, die hier Interesse bietet, da bei der Untersuchung des Novocains dieselben Resultate gefunden wurden. Ehrlich schreibt: „In dieser Hinsicht dürfte namentlich die Eindeutigkeit interessant erscheinen, mit der in ganz heterogen zusammengesetzten organischen Stickstoffverbindungen, wie primären, tertiären Aminen, Aminosäuren usw. durch sehr viele Arten von Mikroorganismen regelmäßig und in zahlreichen Fällen fast quantitativ ein Ersatz des Stickstoffs durch die OH-Gruppe stattfindet."

Soweit uns bekannt, sind damit die Angaben der Literatur erschöpft.

Die ersten systematischen Untersuchungen auf diesem Gebiet wurden 1917 in unserem Laboratorium von A. Weinhagen[2]) angesetzt und zum Teil von ihm beendet. An dieser Stelle möchte ich noch seiner Liebenswürdigkeit, mir die anderen Versuche zu überlassen, dankend erwähnen. Ich gelangte dadurch in den Besitz wertvoller, drei Jahre der Einwirkung von Pilzen ausgesetzten Chininlösungen.

Weinhagens Ausführungen beschränkten sich auf das Cocain. Sie sind in dieser Arbeit an zugehöriger Stelle zwecks Erläuterungen kurz aufgeführt. Das mit Organismen angesetzte Cocain wurde dabei vollständig zerstört und als Spaltungs-

---

[1]) Ehrlich, Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, II. Abt., Bd. 41, 245 (1914).

[2]) E. Winterstein und A. Weinhagen, Schweizer Apotheker-Zeitung, No. 10 (1919).

produkte konnte er neben einer nicht näher charakterisierten, mehrmals erhaltenen Base, Benzoesäure und Benzoylecgonin nachweisen.

Es versprach nun eine erfolgreiche Tätigkeit, die begonnenen, noch nicht abgeklärten Versuche weiter zu verfolgen und auf andere Alkaloide zu übertragen. Die Art der Zersetzung sollte neben dem bereits begonnenen Cocain und Chinin noch an Ecgonin, Atropin, Morphin und Brucin studiert werden; besondere Beachtung wurde aber auf das Novocain verwendet, da es uns durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. Clairmont und die überaus zuvorkommende Unterstützung seines Assistenten Herrn Dr. Winterstein möglich wurde, auch über das bisher noch nicht näher bekannte Schicksal des Novocains im Organismus, Untersuchungen auszuführen. Wir hatten somit die Gelegenheit, die Zersetzung des Novocains durch Mikroorganismen und im menschlichen Körper nebeneinander zu studieren.

Eine weitere noch speziell interessante Aufgabe war, zu prüfen, ob es gelingen würde, durch die spezielle Tätigkeit von kohlensäureabspaltenden Bakterien, die sonst chemisch undurchführbare Umwandlung des Ecgonins in Tropin zu bewirken.

Über die Festsetzung der in Frage kommenden Alkaloide ist damit das Nötige mitgeteilt. Besondere Beweggründe unter den zu verwendenden Pilzen und Bakterien eine Auswahl zu treffen, lagen außer bei den Fäulnisbakterien nicht vor. Es konnte sich vorerst bei diesen Arbeiten nur darum handeln, zu sehen, ob und was für Spaltungsprodukte bei den Alkaloiden überhaupt auftreten würden und zudem zu konstatieren, ob durch verschiedene Mikroorganismen ein Unterschied in der Zersetzung eintrete.

Herrn Prof. Dr. Silberschmid möchte ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen für seine Ratschläge in dieser Beziehung, sowie für die Überlassung von Reinkulturen zur Impfung der Alkaloidlösungen, und der Firma Meister, Lucius & Brüning in Höchst für die mir zur Verfügung gestellten Präparate.

Anordnung der Versuche.

Die Anordnung der Versuche ist aus dem experimentellen Teil ersichtlich und ergibt sich von selbst. Wie schon Weinhagen getan hat, füllten wir 1—2 Literflaschen mit der alkaloidhaltigen Nährlösung so, daß über der Flüssigkeit noch ein Luftraum von ca. 600 ccm vorhanden war. Nach dem Sterilisieren und Impfen wurden die Proben teilweise einige Wochen in den Brutschrank gestellt oder direkt an einem geschützten Orte der Zersetzung überlassen. Wie sich später herausstellte, hatte das Verweilen im Brutschrank keine Bedeutung. Am Ende der Versuchsdauer waren diese Pilze nicht üppiger als diejenigen, welche von Beginn an schon bei gewöhnlicher Temperatur stehen blieben.

Cocain, Atropin und Morphin konnten wegen ihrer Empfindlichkeit erst nach dem Sterilisieren der Nährlösung unter besonderen Vorsichtsmaßregeln zugefügt werden.

Was die Nährlösungen anbetrifft, so wurden dabei möglichst einfache gewählt, um Komplikationen tunlichst zu vermeiden. Zur Anwendung gelangten solche mit und ohne Stickstoff und zwar wurde teils Glykokoll, teils Ammonsulfat als Stickstoffquelle gebraucht. Die Anzahl der Versuche war nicht entsprechend groß genug, um festzustellen, ob die Beschaffenheit der Nährlösung, das heißt, ob stickstofffrei oder stickstoffhaltig, einen Einfluß auf den Verlauf der Einwirkung ausübe. Es schien jedoch, daß bei denjenigen Versuchen, für welche eine stickstoffhaltige Nährlösung verwendet wurde, eine stärkere Zersetzung stattgefunden habe, als bei denen mit stickstofffreier Nährlösung. Das würde auch übereinstimmen mit einer Mitteilung von Lutz[1]), in welcher er bemerkt, daß Alkaloide wie Coffein, Chinin, Morphin als alleinige Stickstoffquellen für Aspergillus niger und Penicillium nicht ausreichend sind. Dagegen machte er die interessante Erfahrung, daß bei gleichzeitiger Darreichung anderer Stickstoffnahrung, z. B. Ammonsalzen, eine Ernte erzielt wurde, welche nicht nur die Stickstoffmenge

---

[1]) Lutz, Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. 40, II. Abt., S. 637 (1914).

enthielt, die im Ammonsalz vorhanden war, sondern auch eine beträchtliche Menge Stickstoff aus dem Alkaloid entnommen hatte.

Tabellarische Zusammenstellung der Versuche.

Flasche No.			geimpft	verarbeitet	Versuchsdauer
1	1,5 g Cocain HCl	Pyocyaneus . .	26.Febr.17	—	8 Mon.
2	1,5 „ „ „	Mesentericus . .	„	—	8 „
3	1,5 „ „ „	Aspergillus . . .	„	—	8 „
4	1,5 „ „ „	Penicillium . . .	„	—	8 „
5	2 „ Chininsulfat	Pyocyaneus. . .	„	Nov. 20	3 Jahre 8 Mon.
6	2 „ „	Mesentericus . .	„	„	3 „ 8 „
7	2 „ „	Aspergillus . . .	„	Jan. 21	3 „ 10 „
8	2 „ „	Penicillium . . .	„	April 20	3 „ 3 „
9	2 „ „	„	„	„	3 „ 3 „
10	5 „ Cocain HCl	Mesentericus . .	29. Dez. 20	Febr. 22	1 „ 2 „
11	2 „ „ „	Penicillium . . .	„	„	1 „ 2 „
12	3 „ Chininsulfat	Bakterium Coli .	„	Aug. 22	1 „ 7 „
13	2 „ „	„ „	„	„	1 „ 7 „
14	5 „ Cocain pur	Bakterium Coli .	4. Febr. 21	Juni 22	1 „ 4 „
15	5 „ „ „	„ „	„	„	1 „ 4 „
16	2 „ Atropinsulfat	Bakterium Coli .	„	Juli 22	1 „ 5 „
17	3 „ „	„ „	„	„	1 „ 5 „
18	4 „ „	Proteus	„	„	1 „ 5 „
19	4 „ „	„	„	„	1 „ 5 „
20	3 „ Brucin pur	Proteus	„	Aug. 22	1 „ 6 „
21	3 „ „ „	Mesentericus . .	„	„	1 „ 6 „
22	4 „ Morphin „	Bakterium Coli .	„	Juli 22	1 „ 6 „
23	4 „ „ „	„ „	„	Aug. 22	1 „ 6 „
24	5 „ Cocain „	Fäulnisbakterien	24.März 21	Juni 22	1 „ 3 „
25	3 „ Novocain HCl	„	„	Aug. 22	1 „ 4 „
26	5 „ Atropinsulfat	„	„	„	1 „ 4 „
27	4 „ Ecgonin . . .	„	18.April 21	Juni 22	1 „ 2 „
28	4 „ „	unbekannter Pilz	„	„	1 „ 2 „
29	4 „ Novocain HCl	Aspergillus . .	29.April 21	Januar 22	9 „
30	2,5 „ „ „	Proteus	„	„	9 „
31	2 „ „ „	Pyocyaneum . .	„	Dez. 21	8 „
32	7 „ „ „	Aspergillus . . .	26. Jan. 22	Juli 22	6 „
33	4 „ „ „	„	„	„	6 „
34	2,234 g Cocain HCl in reiner steriler Nährlösung		5. Juni 22	Aug. 22	3 „
35	2,145 g Atropinsulfat in reiner steriler Nährlösung		„	„	3 „

Experimentelles.

Verwendete Nährlösungen.

Nährlösung A.

In 1 Liter destilliertem Wasser: 5 g Traubenzucker
5 g Kaliumphosphat
2,5 g Magnesiumsulfat
0,5 g Kaliumchlorid
20 Tropfen Eisenchloridlösung.

Kocht man diese Lösung, so scheidet sich ein starker Niederschlag aus. Deshalb wurde pro Liter noch 0,5 g Zitronensäure zugesetzt, so daß die Lösung eben schwach sauer reagierte, hierauf gekocht, filtriert und nach dem Erkalten jedem Kolben eine Spur $CaCO_3$ zugesetzt.

Nährlösung B.

In 1 Liter destilliertem Wasser: 5 g Traubenzucker
5 g Kaliumphosphat
2,5 g Magnesiumsulfat
0,5 g Kaliumchlorid
0,5 g Zitronensäure
0,2 g Ammonphosphat
20 Tropfen Eisenchloridlösung
Kalk in Spuren.

Nährlösung C.

In 1 Liter destilliertem Wasser: 5 g Traubenzucker
5 g Kaliumphosphat
2,5 g Magnesiumsulfat
0,5 g Kaliumchlorid
0,5 g Zitronensäure
0,2 g Glykokoll
20 Tropfen Eisenchloridlösung
Kalk in Spuren.

Nährlösung D.

In 1 Liter destilliertem Wasser: 5 g Traubenzucker
5 g Kaliumphosphat
2,5 g Magnesiumsulfat
0,5 g Kaliumchlorid.

Das Sterilisieren der Nährlösungen.

Wenn möglich wurde das Alkaloid vor dem Sterilisieren zugesetzt, dann aufgekocht, einen Tag stehen gelassen und das noch zweimal wiederholt. Hierauf wurden die Pilze oder Bakterien von einer frischen Kultur übergeimpft.

Bei Atropin, Cocain und Morphin wurden die Kolben mit der Nährlösung für sich sterilisiert, das Alkaloid einige Stunden bei 80° im Trockenschrank gelassen, sorgfältig in die Kolben eingefüllt und sofort geimpft.

Chinin, $C_{20}H_{24}N_2O_2$.

Flasche 5.

Chinin und Pyocyaneus, von Dr. Weinhagen im Februar 1917 angesetzt.

2 g Chininsulfat in ca. 1 Liter Nährlösung A wurden mit Pyocyaneus geimpft und bei gewöhnlicher Temperatur 4 Jahre stehen gelassen. An der Oberfläche hatte sich eine dicke Pilzhaut gebildet; die Flüssigkeit war schwach gelb gefärbt.

Der von der Lösung abfiltrierte, getrocknete Pilz wog 0,5 g und ließ von bloßem Auge einen okludierten weißen Körper erkennen. Dieser wurde mit Chloroform ausgezogen, er gab die Reaktionen des Chinins. Der Rückstand wurde mit Schwefelsäure extrahiert. Das Gewicht des extrahierten Pilzes betrug 0,095 g. Der Pilz hatte also 0,4 g Chinin okludiert und zwar als freie Base, da diese ohne vorherige Operationen direkt mit Chloroform aufgenommen werden konnte.

Die vom Pilz abfiltrierte Lösung wurde mit Soda schwach alkalisch gemacht und mit Chloroform extrahiert, letzteres über Natriumsulfat gut getrocknet und abdestilliert. Nach dem Trocknen im Vakuum hinterblieb ein fast farbloser glasiger Körper, welcher folgende Reaktionen gab:

Phosphorwolframsäure	weiße Fällung
Kaliumpermanganat	entfärbt
Jodkalium	braune Fällung
Pikrinsäure	gelbe Fällung
Kaliumwismutjodid	braune Fällung.

In Schwefelsäure löste sich der Körper mit blauer Fluoreszenz und kristallisierte aus der schwefelsauren Lösung beim Einengen in derben radial zusammengelagerten Prismen. Mit verdünntem Ammoniak fällt die freie Base als weißer, amorpher Niederschlag, der auf Ton abgepreßt einen Schmelzpunkt von 172—174° zeigte. Der Mischschmelzpunkt mit käuflichem Chinin ergab 172—174°.

Zur weiteren Prüfung wurde noch das Verhalten im Polarisationsapparat untersucht.

0,0600 g reines Chinin wurden in 6 ccm absolutem Alkohol gelöst und mit dieser Lösung das Röhrchen des Polarisationsapparates gefüllt. Die abgelesene Drehung (Mittelwert von 10 Ablesungen) betrug $-4{,}5^0$. Von der aus dem Chloroformextrakt gewonnenen, sorgfältig getrockneten Base wurden ebenfalls genau 0,0600 g abgewogen, in 6 ccm vom gleichen Alkohol gelöst und polarisiert. Abgelesene Drehung $= -4{,}5^0$.

Zur Kontrolle wurde noch der Polarisationskoeffizient der gebrauchten Röhre mit dem verwendeten Alkohol gemessen. Die Drehung betrug $\pm 0^0$.

Die mit Chloroform extrahierte Base ist also reines Chinin, wovon 1,02 g isoliert werden konnten.

Die in alkalischer Lösung mit Chloroform extrahierte Flüssigkeit wurde mit Salzsäure genau neutralisiert, im Vakuum zur Trockne verdampft und der staubfein zerriebene Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen. Beim Verdunsten des Alkohols hinterblieb wenig einer gelblichen, amorphen Masse, die zum größten Teil Zucker war. Bei der Prüfung mit Kalium auf Stickstoff entstand ein ziemlich starker Niederschlag von Berlinerblau. Die noch anwesende Base wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt, die erhaltene Fällung mit Baryt zersetzt und der Barytbrei mit Alkohol ausgezogen. Der Alkohol hinterließ geringe Mengen der glasigen Masse, leicht löslich in Säuren und daraus durch Alkalien wieder fällbar. Sie gab die Thalleiochin-[1]) und Erythrochinreaktion[2], und war wohl ebenfalls Chinin.

---

[1]) Fühner, Archiv der Pharmazie 244, Heft 8 (1906).

[2]) Abensour, Pharmazeutische Zeitung (1907), S. 680.

Der mit Alkohol extrahierte Rückstand wurde zur weiteren Prüfung auf eventuell noch vorhandene Basen oder Spaltungsprodukte mit Phosphorwolframsäure versetzt. Dabei entstand eine geringe Fällung. Von den in der Nährlösung erhaltenen Stoffen gibt Kaliumchlorid ebenfalls einen Niederschlag mit Phosphorwolframsäure. Es war daher zu untersuchen, ob diese von Kaliumchlorid oder von einer vorhandenen Base herrührte. Zu diesem Zweck wurde der abfiltrierte Niederschlag mit Baryt zersetzt. Es wurde nur soviel Baryt zugesetzt, daß die Lösung eben alkalisch reagierte, und nach kurzer Zeit abfiltriert. Das Kaliumwolframat wurde dabei nicht zerlegt, da es ebenso unlöslich ist wie das Baryumsalz, sowohl in Wasser als in Alkohol. Der Extrakt des mit Baryt zerriebenen Phosphorwolframniederschlages ist frei von Kaliumsalzen und kann nun nochmals mit Phosphorwolframsäure oder Pikrinsäure usw. geprüft werden, da darin nur organische Basen vorhanden sein sollten.

Mit Phosphorwolframsäure entstand jedoch zum zweitenmal keine Spur einer Fällung mehr und der Extrakt zur Trockne verdampft, ließ nur wenig vorher in Lösung gebliebenes Baryumkarbonat zurück, jedoch keine organischen Verbindungen.

Insgesamt wurden 1,42 g Chininbase zurückgewonnen, was einer Menge von 1,8 g Chininsulfat entspricht.

Das Chinin war also unverändert, da außer demselben nicht eine Spur einer anderen Base oder eines Spaltungsproduktes gefunden werden konnte. Die Differenz in den Quantitäten ist jedenfalls auf unvermeidliche Verluste beim Gang der Untersuchung zurückzuführen. Angewendet 2 g Chininsulfat.

Flasche 6.

Chinin und Mesentericus, von Dr. Weinhagen im Februar 1917 angesetzt.

2 g Chininsulfat in 1 Liter Nährlösung A wurden bei gewöhnlicher Temperatur 4 Jahre der Einwirkung von Mesentericus überlassen. Die Flüssigkeit hatte sich bräunlich gefärbt und trug an der Oberfläche einen starken Pilz.

Die Untersuchung gestaltete sich genau gleich wie bei der vorhergehenden, Chinin und Pyocyaneus. Der Pilz hatte ebenfalls eine bedeutende Menge Salz okludiert. Es löste sich jedoch nur ein Teil in Chloroform, der zurückbleibende Anteil ist anorganisch, läßt sich mit Wasser ausziehen, bleibt aber beim Glühen auf dem Platinspatel vollständig unverbrannt zurück. Mit Chloroform konnten 0,2 g Chininbase aus dem Pilz ausgezogen werden.

Durch Ausschütteln mit Chloroform wurden aus der sodaalkalischen Lösung 1,58 g vakuumtrockene, fast farblose, glasige Chininbase gewonnen. Diese zeigt wieder alle dem Chinin eigenen Reaktionen. Aus der schön blau fluoreszierenden schwefelsauren Lösung schieden sich Kristalle von wasserhaltigem Chininsulfat, Schmelzpunkt 57°, aus. Ein Teil der Base wurde zur eindeutigen Identifizierung in das in der Literatur[1]) genau beschriebene Citrat überführt.

Zu diesem Zweck wurde dieselbe in getrocknetem Äther gelöst und mit einer ätherischen Lösung von wasserfreier Zitronensäure versetzt. Das in Äther schwer lösliche Chinincitrat fällt dabei sofort rein weiß aus, kristallisierte aus heißem Wasser in feinen Nädelchen vom Schmelzpunkt 204°. Der Mischschmelzpunkt mit Chinincitrat aus käuflichem Chinin ergab ebenfalls 204°. Durch Behandeln des Rückstandes mit absolutem Alkohol und Ausfällen der gelösten Basen mit Phosphorwolframsäure konnte nochmals eine geringe Menge ca. 0,05 g Chinin, charakterisiert durch den Schmelzpunkt der wasserfreien Base und das Citrat, isoliert werden.

Der nun gebliebene Rückstand besteht nur noch aus Zucker und den anorganischen Bestandteilen der Nährlösung. Mit organischen Lösungsmitteln oder Akaloidfällungsreagentien konnte nichts mehr herausgebracht werden.

Die aus diesem Versuch zurückgewonnene Menge Chinin beträgt 1,65 g Base oder umgerechnet 1,98 g Chininsulfat (verwendet 2 g Chininsulfat).

---

[1]) Abderhalden, Biochemisches Handlexikon, Bd. V, S. 148.

Flasche 7.

Chinin und Aspergillus, von Dr. Weinhagen im Februar 1917 angesetzt.

2 g Chininsulfat in 1 Liter Nährlösung A wurden mit Aspergillus geimpft und 4 Jahre dessen Einwirkung ausgesetzt.

Die Farbe der Flüssigkeit war tief dunkelbraun, fast schwarz undurchsichtig und die ganze Flasche mit dem Pilz sowohl über als in der Flüssigkeit angefüllt.

Trotzdem der Pilz hier am stärksten gewachsen, enthielt er selbst, wie in dem vorhergehenden Versuch, nachdem er mit Wasser ausgewaschen und getrocknet war, nur Spuren von Chinin, das mit Chloroform von den anorganischen Beimengungen getrennt und als wässeriges Sulfat vom Schmelzpunkt 56° bestimmt wurde.

Das Ausschütteln mit Chloroform ergab 1,66 g der erwähnten glasigen Substanz, die noch unrein bei 172° schmilzt. Beim Auflösen in Äther schien es als ob zwei verschiedene Körper anwesend seien, da ein Teil sich sofort leicht löste, während das übrige darin nur schwerer löslich war. Beide Körper gaben jedoch die Thalleiochin- und Erythrochinreaktion, sowie mit Ferricyankali die für Chinin typischen flachen Prismen. Mit Zitronensäure wurden in beiden Fällen Citrate erhalten, die sowohl unter sich als auch mit Citrat aus käuflichem Chinin einen Mischschmelzpunkt von 204° lieferten. Ebenso stimmten die Oxalate, dargestellt aus Chinin und Ammonoxalat, in den Schmelzpunkten und Mischschmelzpunkten F.P. 196—197° vollständig überein. Nach dreimaligem Ausschütteln der verbliebenen Lösung mit demselben Volumen Chloroform war das Chinin vollständig entfernt, so daß die Extraktion des eingedunsteten Rückstandes mit absolutem Alkohol nichts mehr ergab.

Die Phosphorwolframsäurefällung lieferte auch keine weiteren organischen Verbindungen mehr.

Chinin wird also auch von Aspergillus nicht angegriffen, die 1,66 g Base des Chloroformextraktes machen gerade 1,98 g Sulfat aus das der verwendeten Menge entspricht.

Die zwei nächstfolgenden Versuche wurden angesetzt, bevor die eben ausgeführten Untersuchungen beendet waren. Nachdem man bei 4jähriger Einwirkung keine Spur einer Zersetzung wahrnehmen konnte, war vorauszusehen, daß bei kürzerer Dauer der Einwirkung eine Zersetzung ebenfalls nicht stattfinden würde. Es wurde jedoch hier nur noch der Inhalt von zwei solchen Kolben untersucht, die mit anderen Pilzen oder Bakterien geimpft und die Menge der verwendeten Base etwas genauer bestimmt war.

Flasche 12.

Chinin und Bakterium Coli.

3,0 g Chininsulfat in 1,6 Liter Nährlösung A blieben 1 Jahr 7 Monate der Einwirkung von Bakterium Coli ausgesetzt.

Die Lösung hatte braune Farbe angenommen, reagierte schwach sauer und zeigte starke blaue Fluoreszenz.

Nach dem Abfiltrieren von einer nur sehr geringen Bakterienhaut, die weder organische noch anorganische Salze okludiert hatte, wurde die Flüssigkeitsmenge auf dem Wasserbad auf ca. 200 ccm eingeengt, mit Soda schwach alkalisch gemacht und dreimal mit Chloroform ausgezogen. Daraus resultierten 2,47 g Chininbase entsprechend 2,98 g Chininsulfat. Schmelzpunkt der in Schwefelsäure gelösten und mit Ammoniak wieder ausgefällten Base = 172°. Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt des Citrates = 203°.

Die Extraktion der angesäuerten Lösung mit Äther ergab nichts. Auch das Ausziehen des sauren Verdampfungsrückstandes mit säurehaltigem Alkohol, wegen eventuell vorhandener Chininsäure, war erfolglos. Phosphorwolframsäure gab nur eine von Kaliumchlorid herrührende geringe Fällung.

Flasche 13.

Trotzdem das Chinin des vorigen Versuches sozusagen quantitativ zurückgewonnen wurde, eine Zersetzung also ziemlich ausgeschlossen ist, wurde noch eine Flasche mit Chininsulfat und Bakterium Coli untersucht. In Flasche No. 12

waren 3 g Chininsulfat im 2-Literkolben und 1,6 Liter Nährlösung, Flasche No. 13 dagegen war kleiner, sie enthielt 2 g Chininsulfat und 1 Liter Nährlösung in einem 1,5-Litergefäß. In dieser letzten Flasche schien bei gleich langer Dauer der Einwirkung eine viel stärkere Entwicklung der Bakterien stattgefunden zu haben. Die Farbe der Flüssigkeit war fast schwarz und die Menge der Bakterienkulturen viel größer als bei Flasche 12. Es zeigte sich auch sofort, daß diese wieder Chininbase okludiert hatten und zwar 0,89 g. Im Verlauf der weiteren Untersuchung, die genau gleich durchgeführt wurde wie für Flasche 12, konnten mit Chloroform in alkalischer Lösung 0,73 g Chinin extrahiert werden.

Insgesamt beträgt somit hier das wiedergefundene Chinin 1,62 g, entsprechend 1,95 g Chininsulfat.

Die Bakterien hatten mehr als die Hälfte des Sulfates zerlegt und die gebildete Base okludiert, jedoch auch hier ohne weitere zersetzende Wirkungen auf die Chininbase auszuüben.

Flaschen 8 und 9.

Chinin und Penicillium glaucum.

Es folgen noch zwei Versuche über Chinin mit Penicillium, die im Jahr 1917 von Dr. Weinhagen angesetzt und im September 1920 von H. Egli verarbeitet wurden.

In beiden Fällen wurden von 2 g Chininsulfat 1,27 g Chininbase = 1,5 g Chininsulfat zurückerhalten, identifiziert durch den Schmelzpunkt der Base und die optische Drehung. Spaltungsprodukte konnten auch von Egli in unserem Laboratorium nicht isoliert werden.

Die ziemlich große Menge des fehlenden Chinins ist aber auch hier jedenfalls nicht zersetzt worden, sondern nach meiner Vermutung von dem Pilz okludiert worden und so dem Nachweis entgangen, da Egli das Gewicht des trockenen Pilzes zu 3,5 g angibt, was mir auch für einen sehr stark entwickelten Pilz, gegenüber meinen Beobachtungen, 0,3 g bei dem während 4 Jahren gut gewachsenen Aspergillus, fast unmöglich erscheint.

Cocain, $C_{17}H_{21}NO_4$.

Flasche 3.

Cocain und Aspergillus niger, von Dr. Weinhagen untersucht.

1,5 g Cocainhydrochlorid wurden von Weinhagen in Nährlösung A 8 Monate der Einwirkung von Aspergillus ausgesetzt. Mit Äther konnte er aus der Lösung weder sauer noch alkalisch Spaltungsprodukte oder unverändertes Cocain isolieren, worauf er zur Trockne verdampfte und den Rückstand mit Alkohol extrahierte. Dabei resultierte ein konsistentes, schwach gelbliches, eigenartig riechendes Öl, angeblich das Chlorhydrat einer Base. Diese soll ein Golddoppelsalz geben, das sich langsam zersetzt und vakuumtrocken einen Schmelzpunkt von 98° gibt. Das Molekulargewicht der Base bestimmte Weinhagen auf Grund seiner Goldbestimmung zu 169,5, das würde demjenigen des Ecgonins minus einer Methylgruppe entsprechen.

Die Base löste sich in Wasser schwer, gab mit Phosphorwolframsäure eine weiße Fällung, mit Platinchlorid jedoch nichts. Die Pyrrolreaktion ist positiv, sowohl ohne als mit Zinkstaub.

Flasche 4.

Cocain und Penicillium. Untersuchung ausgeführt von Dr. Weinhagen.

1,5 g Cocainhydrochlorid in Nährlösung A blieben mit Penicillium 8 Monate bei Zimmertemperatur stehen. Die Untersuchung zeigte genau das gleiche Resultat wie bei Cocain und Aspergillus; einen Tropfen Base mit denselben Eigenschaften wie eben beschrieben. Weinhagen schließt auf Grund dieser Übereinstimmungen, daß es sich bei Aspergillus und Penicillium um die gleiche Base handelt.

Flasche 1.

Cocain und Pyocyaneus, Untersuchung von Dr. Weinhagen ausgeführt.

Die verwendete Nährlösung war dieselbe wie bisher und die Dauer der Einwirkung 8 Monate. Cocain wurde nicht mehr gefunden, es war auch hier vollständig zersetzt. Dagegen gelang es mit Äther aus der sauren Lösung Benzoesäure und im Alkoholauszug des Trockenrückstandes Benzoylecgonin zu isolieren.

Flasche 2.

Cocain und Mesentericus, untersucht von Dr. Weinhagen.

Angesetzt waren wieder 1,5 g Cocainhydrochlorid in 1 Liter Nährlösung A, die 12 Monate mit Mesentericus stehen blieben. Da Weinhagen bei der Untersuchung wieder Benzoesäure und durch Extraktion mit Alkohol Benzoylecgonin fand, nahm er an, daß daneben noch eine weitere Base entstanden sein müsse und untersuchte deshalb den extrahierten Rückstand genauer. Durch Fällen mit Pikrinsäure erhielt er ein Doppelsalz, das schon aus verdünnten Lösungen sich sofort in feinen Nadeln abschied. Es ist schwer löslich in kaltem Wasser, läßt sich dagegen aus heißem umkristallisieren. Bei 260° war das Pikrat im Schmelzpunktsapparat noch unverändert, höher erhitzt explodierte es ohne vorher zu schmelzen. Die Identifizierung der Base oder des Pikrates gelang nicht.

Flasche 10.

Cocain und Mesentericus.

Weinhagen fand, daß schon in 8 Monaten 1,5 g Cocainhydrochlorid durch Pilze oder Bakterien vollständig zerstört wurden. Ihre Leistungsfähigkeit in dieser Beziehung kann also jedenfalls etwas höher angenommen werden und da sich die Untersuchung der Spaltungsprodukte um so leichter gestaltet in je größerer Menge diese vorhanden sind, wurden für die folgenden Versuche mit Cocain 2—5 g der reinen

Base angewendet, um zugleich einen Einblick in die für die Zersetzung günstigste Alkaloidkonzentration zu bekommen.

Da die Untersuchungen von Dr. Weinhagen nicht vollständigen Aufschluß über die Zersetzung von Cocain durch Mesentericus ergaben, wurden nochmals 5 g Cocainhydrochlorid in Nährlösung A mit diesem Bacillus geimpft und nach 14 Monaten verarbeitet. Die Nährlösung war braun gefärbt und der Bacillus bildete eine am Boden schwimmende weiße Gallerte. Die Prüfung, ob dieser vielleicht wie beim Chinin organische oder anorganische Verbindungen okludiert hätte, fiel negativ aus.

Die bis zu schwach alkalischer Reaktion mit verdünnter Natronlauge versetzte Lösung wurde dreimal mit viel Äther ausgeschüttelt. Beim Versetzen mit Natronlauge bildete sich ein starker, weißer, schön kristalliner Niederschlag. Er wurde nach dem Extrahieren mit Äther, um keine Verluste durch ölig ausgeschiedenes Cocain zu haben, abfiltriert und als vollständig anorganisch befunden. Da sich die Ausscheidung bei den meisten Versuchen einstellte, war dies jeweilen ein gutes Mittel, einen großen Teil der hinderlichen Bestandteile der Nährlösung zu entfernen. Der getrocknete Ätherextrakt hinterließ beim Verdunsten 2,14 g einer weißen, schön kristallinen Substanz vom Schmelzpunkt 97°. Die Mischprobe mit Cocain und das bei 146° schmelzende Pikrat bestätigten, daß es sich um ersteres handelte.

Die saure Extraktion mit Äther ergab 0,12 g Benzoesäure, F. P. 120° nach dem Sublimieren.

Nach genauer Neutralisation der gebliebenen Lösung wurde diese zur Trockne verdampft und mit warmem, absolutem Alkohol behandelt. Schon beim Erkalten des Alkohols schieden sich feine Nadeln aus, die leicht als Benzoylecgonin charakterisiert wurden; durch die bei 86° schmelzende Mischprobe des kristallwasserhaltigen Produktes und das Golddoppelsalz, F. P. 220°, übereinstimmend mit der von Weinhagen gemachten Beschreibung. Die Ausbeute an Benzoylecgonin betrug 1,5 g. Der noch verbliebene Rückstand muß wie auch Weinhagen vermutete noch eine weitere Base enthalten, da neben dem Benzoylecgonin auch Benzoesäure als

Spaltungsprodukt auftrat. Weinhagen fand hierbei das früher schon erwähnte und beschriebene Pikrat. Mit Pikrinsäure gelang es auch hier sofort, das in schönen Nadeln sich ausscheidende Doppelsalz zu bekommen. Es stimmte in den Eigenschaften genau mit dem von Weinhagen isolierten überein. Bei genauer Untersuchung stellte sich jedoch heraus, daß es Kaliumpikrat war, da wir aus Kaliumchlorid und Pikrinsäure die vollständig identische Verbindung erhielten.

Da Benzoesäure entstanden war, durfte man das Vorhandensein von Ecgonin in der Flüssigkeit erwarten. Dieses wurde in folgender Weise isoliert. Der Rückstand wurde in verdünnter Schwefelsäure gelöst, mit Phosphorwolframsäure versetzt und die Fällung in gewohnter Weise aufgearbeitet. Nach dem Entfernen des überschüssigen Baryumhydroxydes schieden sich beim Verdunsten aus der Lösung kurze, farblose Prismen vom Schmelzpunkt 108°. Die Mischprobe mit reinem käuflichem Ecgonin gab ein gleiches Resultat. Das Golddoppelsalz des Ecgonins ist von Einhorn[1]) detailliert beschrieben und für das kristallwasserhaltige Salz der Schmelzpunkt zu 71°, für das entwässerte zu 202° angegeben.

Mit Goldchlorid erhielt ich mit dem als Spaltungsprodukt gewonnenen Ecgonin ein Doppelsalz, das einen Schmelzpunkt von 99—100° zeigte, auch nach mehrmaligem Umkristallisieren.

Vergleichshalber stellte ich das Goldsalz aus käuflichem Ecgonin dar und fand dieses vollkommen identisch mit dem obigen, Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt waren scharf 90—100°. Später gelang es dann neben diesem auch noch die beiden von Einhorn angegebenen Goldsalze F. P. = 71° und das Entwässerte F. P. = 202° herzustellen.

Aus den Mutterlaugen vom Benzoylecgonin schieden sich endlich neben den feinen Nädelchen des Benzoylecgonins, die von diesem sehr leicht zu unterscheidenden, kurzen, dicken Prismen des Ecgonins aus; das heißt ein Teil des Ecgonins läßt sich aus dem Rückstand schon durch Behandeln mit Alkohol gewinnen.

Insgesamt wurde 0,1 g Ecgonin gefunden.

---

[1]) Einhorn, B. 21, 3037.

Flasche 11.

Cocain und Penicillium.

Dr. Weinhagen hat als Spaltung von Cocain durch Penicillium eine ölige Base gewonnen, deren Identifizierung aber nicht möglich war. Es schien deshalb von Interesse, diesen Versuch zu wiederholen, um eventuell näheres über den Körper herauszubringen. Dazu wurden nochmals 2 g Cocainhydrochlorid in der gleichen Nährlösung mit Penicillium geimpft. Nach 14 Monaten hatte sich der Pilz sehr gut entwickelt, die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt. Die Untersuchung zeigte aber sofort, daß auch hier nicht alles Cocain zerstört wurde, da Äther noch 0,19 g Cocainbase extrahierte.

Aus der mit Salzsäure angesäuerten Lösung konnten mit Äther 0,5 g Benzoesäure ausgeschüttelt werden.

Der alkoholische Auszug des neutralen, staubfein pulverisierten Trockenrückstandes hinterließ beim Verdunsten des Alkohols ganz wenig einer dicken öligen Flüssigkeit, die in ihren Eigenschaften gut mit der von Weinhagen an gleicher Stelle erhaltenen Base übereinstimmte.

Mit Alkohol war jedenfalls nur ein Teil der Abbauprodukte extrahiert worden, denn mit Phosphorwolframsäure entstand im wieder gelösten Rückstand eine starke Fällung, die nicht nur von Kaliumchlorid stammen konnte. Sie wurde mit Baryt zersetzt und dabei resultierten nochmals 0,6 g der öligen, jetzt ganz farblosen Flüssigkeit. Das mit Goldchlorid dargestellte Doppelsalz, sowie dessen Schmelzpunkt 98° und der Mischmelzpunkt mit Ecgoningoldsalz ließen keinen Zweifel, daß es sich auch hier um Ecgonin handelt. Nach längerem Stehen und Impfen mit einem Ecgoninkristall war dann auch das Öl zum Kristallisieren zu bringen.

Es erscheint nun jedenfalls wahrscheinlich, daß die von Weinhagen aus Cocain mit Penicillium und Aspergillus erhaltene Base Ecgonin war. Die dort gefundenen Eigenschaften stimmen auch mit den hier angegebenen überein, begründend aber ist für die Vermutung das von Weinhagen dargestellte bei 98° schmelzende Goldsalz. Daß dieses Gold-

salz dasjenige von Ecgonin war, konnte dort nicht so leicht ersehen werden, da in der Literatur nur die beiden anderen vom Schmelzpunkt 71° und 202° angegeben sind. Begreiflich ist auch, daß der Schmelzpunkt bei längerem Trocknen im Vakuum stieg, da dadurch das kristallwasserhaltige Salz entwässert wurde. Die Bestimmung des Molekulargewichtes der Base spricht ebenfalls für Ecgonin. Gefunden wurde es zu 169,56. Für Ecgonin berechnet ergibt sich jedoch der Wert 185,01, eine Differenz von 15,45, die ungefähr gerade dem Wert einer Methylgruppe entspricht, das heißt, das gefundene Molekulargewicht würde für Nor-Ecgonin stimmen, was jedoch völlig ausgeschlossen ist, da die chemischen Eigenschaften damit nicht in Einklang zu bringen sind. Der gefundene Wert 169,56 kann übrigens gut auf das Molekulargewicht vom Ecgonin bezogen werden, da der Fehler nicht mehr allzu groß ist, wenn man bedenkt, daß die Goldbestimmung, auf welche sich die Berechnung stützt, mit 0,0703 g Substanz ausgeführt wurde.

Flaschen 14 und 15.

Cocain und Bakterium Coli.

Flasche 14 und 15 enthielten je 5 g Cocain, reine Base in Nährlösung A und waren 16 Monate der Zersetzung überlassen.

Der Abbau des Cocains durch Bakterium Coli ist bedeutend stärker als bei den früheren Versuchen. Aus Flasche 14 konnten noch 1,43 g Cocain und aus Flasche 15 1,53 g zurückerhalten werden. Im Durchschnitt sind also 3,5 g Base zerstört worden.

Mit Äther ließ sich aus der angesäuerten Lösung sofort wieder Benzoesäure ausschütteln und zwar in Mengen von 0,52 bezw. 0,65 g. Dagegen ergab die Extraktion der eingedampften, neutralisierten Lösung mit Alkohol nur wenige Kristalle von Ecgonin, die Hauptmenge der Spaltungsprodukte mußte mit Phosphorwolframsäure gefällt werden. Bei der Zersetzung des entstandenen Niederschlages, der vorher mit verdünnter Schwefelsäure gut gewaschen wurde, konnte durch Heraus-

lösen mit Wasser ein dicker, farbloser Syrup erhalten werden, der nicht zum Kristallisieren zu bringen war. In Wasser und Alkohol löste er sich ziemlich leicht. Beim Versetzen mit verdünnter Säure schied sich sofort ein weißer kristalliner Körper aus, der abfiltriert und getrocknet leicht sublimierte, bei 122° schmilzt und sich als Benzoesäure erwies. Nach dem Entfernen der letzteren gab die Lösung ein Goldsalz vom Schmelzpunkt 176°. Um die Benzoesäure abzutrennen mußte die Lösung angesäuert werden. Zur Isolierung der noch anwesenden Base wurde diese nun nochmals mit Phosphorwolframsäure gefällt und das Baryumhydroxyd aus dem wässerigen Auszug sehr sorgfältig mit Schwefelsäure entfernt, um auch den kleinsten Überschuß an letzterer zu vermeiden. Zurück blieb nun wieder ein dicker, farbloser Sirup, aus dem sich aber bald Kristalle mit den charakteristischen Eigenschaften des Ecgonins abschieden. Sie wurden auf der Nutsche von dem öligen Anteil abgesogen. Letzterer kristallisierte nicht mehr, gab aber wieder das Goldsalz, F. P. 176°.

Da das Auftreten der Benzoesäure in der Phosphorwolframsäurefällung auffällig war, wurde untersucht, ob Benzoesäure mit Ecgonin ein Salz bildet. Übereinstimmend mit den Angaben von Liebermann[1]) konnte jedoch eine solche Verbindung nicht erhalten werden. Die Benzoesäure muß also trotz dreimaligem Ausschütteln mit viel Äther nicht quantitativ in denselben übergegangen sein. Bei der Neutralisation bildete sich dann das Natriumsalz. Da das Fällen mit Phosphorwolframsäure in 5% Schwefelsäure vorgenommen wird, wurde dadurch die Benzoesäure aus ihrem Salz in Freiheit gesetzt und mit der Fällung niedergeschlagen, so daß erstere jedenfalls auf diese Weise dem Ecgonin sich beimischte. Diese Vermutung bestätigte sich später bei Flasche 24, als vor dem Ausschütteln der Benzoesäure das große Volumen der Flüssigkeit durch Eindunsten auf dem Wasserbad auf wenige Kubikzentimeter vermindert wurde. Das dort isolierte Ecgonin war frei von Benzoesäure, dagegen die vorher gewonnene Menge etwas größer.

---

[1]) Liebermann, B. 21, 3198.

Flasche 24.

Cocain und Fäulnisbakterien.

Reines Cocain in Nährlösung C wurde mit Fäulnisbakterien geimpft. Nach 15 Monaten zeigte die Untersuchung des fast farblosen Kolbeninhaltes, daß die 5 g Alkaloid vollständig zersetzt waren, da durch öfteres alkalisches Ausschütteln mit Äther nichts mehr zurückgewonnen werden konnte. Um zu verhindern, daß ein Teil der eventuell gebildeten Benzoesäure beim Extrahieren mit Äther in dem Wasser, dem sich verhältnismäßig viel Äther beimischte, zurückgehalten würde, wurden die 1,5 Liter Flüssigkeit im Vakuum auf ca. 100 ccm eingeengt.

Das Resultat des sauren Ätherauszuges war 1,25 g Benzoesäure, das einer Zersetzung von 2,05 g Cocainbase entsprechen würde.

Da jedoch durch alkalische Extraktion mit Äther kein Cocain mehr zurückerhalten wurde, muß man annehmen, daß dasselbe vollständig zersetzt wurde. Aus den verwendeten 5 g Cocainbase müßten aber bei einer Spaltung in Ecgonin und Benzoesäure 3,0 g von der letzteren entstanden sein. Gefunden wurden 1,25 g, also kaum die Hälfte. Im weiteren Verlauf der Untersuchung wurde hier keine Benzoesäure mehr nachgewiesen. Was aus den fehlenden 1,75 g geworden ist, muß vorläufig dahin gestellt bleiben.

In seinen Untersuchungen hatte Dr. Weinhagen aus Cocain mit Penicillium und Aspergillus eine Base erhalten, die wie dort dargetan wurde, jedenfalls Ecgonin war. Auffallenderweise fand Weinhagen dort auch keine Benzoesäure, nur einmal berichtet er von Spuren einer kristallisierten farblosen Substanz, die er mit Äther aus der saueren Lösung isolierte, aber nicht näher bestimmen konnte. Wahrscheinlich handelte es sich dabei ebenfalls um Benzoesäure. Da sich dieselbe aber analytisch sehr leicht nachweisen läßt, ist nicht anzunehmen, daß sie während der Untersuchung übersehen wurde, um so weniger, da, wie ersichtlich, Weinhagens Befunde mit den hier gewonnenen Ergebnissen gut übereinstimmen. Eine Vermutung über die Veränderungen der Benzoesäure läßt sich aber aus den bis jetzt erhaltenen Resultaten ohne weitere eingehende Untersuchungen nicht aufstellen.

Der Trockenrückstand mit absolutem Alkohol behandelt, ergab nur etwas Ecgonin, es wurde somit auch hier wie bei Penicillium und Bakterium Coli kein Benzoylecgonin gefunden.

Phosphorwolframsäure fällte im gelösten Rückstand noch eine bedeutende Menge Ecgonin und daneben wieder einige Tropfen des bis jetzt noch nicht näher charakterisierten Öls.

Diese ölige Base wurde überall, allerdings nur in ganz kleinen Mengen erhalten, wo das Cocain direkt zu Ecgonin abgebaut wurde; aber auch bei den Versuchen mit Ecgonin selbst, das größten Teils unverändert blieb. Da immer aus dem Öl ein Goldsalz, F. P. 176°, darzustellen war, wurde durch einen Mischschmelzpunkt aller dieser Goldsalze festgestellt, daß es sich in allen Fällen um denselben Körper handelte. Um diesen womöglich zu identifizieren, wurden vorerst, zwecks vollständiger Reindarstellung der Base, die aus den verschiedenen Kolben gewonnenen Mengen vereinigt und daraus das Golddoppelsalz hergestellt. Es gibt einen recht scharfen Schmelzpunkt von 176° und sieht unter dem Mikroskop sehr einheitlich aus. Zur Isolierung der Base wurde die Goldverbindung in wenig verdünnter Salzsäure gelöst, das Gold mit Magnesium abgeschieden und aus der Lösung die Salzsäure mit Silberoxyd entfernt. Nach dem Eindunsten im Vakuum entstanden nach einiger Zeit die kurzen charakteristischen Prismen, F. P. 197°. Somit ist diese ölige Base höchstwahrscheinlich Ecgonin, das wegen Spuren von Verunreinigungen, wahrscheinlich auch etwas Feuchtigkeit, nicht kristallisierte. Tropin kann nicht als Verunreinigung vorhanden sein, da dieses ein Goldsalz, F. P. 208°, gibt und unter dem Mikroskop, sowie durch unscharfen Schmelzpunkt neben der anderen Goldverbindung leicht erkannt worden wäre.

Ecgonin müßte demzufolge noch eine dritte Doppelverbindung mit Goldchlorid geben (siehe Seite 23). Trotz verschiedener Versuche war es nicht gelungen aus zwei verschiedenen Ecgonin-Präparaten von Merck, bezw. Hoffmann-La Roche, ein Goldsalz vom F. P. 176° darzustellen. Meistens erhielt ich dasjenige vom F. P. 98°. Die Darstellung desjenigen vom F. P. 76° gelang nicht immer. Da die gesamte Menge des aus dem Öl dargestellten reinen Goldsalzes nur 20 mg

betrug und die daraus hergestellte Base nur gering war, konnte man eine Mikroanalyse nicht ausführen.

Wie aus diesen Arbeiten hervorgeht, wird das Cocain nur bis zum Ecgonin abgebaut. Dieses selbst wird von Bakterien und Pilzen nicht weiter zersetzt. Von den untersuchten Mikroorganismen bewirken Mesentericus und Pyocyaneus allein eine stufenweise Spaltung, weil dabei zuerst ziemlich rasch Benzoylecgonin gebildet wurde, während dann die Verseifung des Benzoylecgonins bedeutend langsamer vor sich ging. Bei den anderen muß man annehmen, daß die Abspaltung der Methylgruppe und der Benzoesäure zugleich erfolgte, da nie auch nur Spuren Benzoylecgonin nachgewiesen wurden. Auffallend sind die großen Unterschiede, in den ungefähr in gleichen Zeiträumen zersetzten Alkaloidmengen. Penicillium zerstörte in 14 Monaten nur 1,6 g Cocainhydrochlorid; Mesentericus 2,5 g, baute aber den größten Teil davon nur bis zu Benzoylecgonin ab. Bakterium Coli zersetzte 3,5 g und die Fäulnisbakterien sogar 5 g Cocainbase. Der Nährlösung der letzteren war allerdings Stickstoff zugesetzt.

Flasche 34.

Um festzustellen, ob Cocain nicht schon durch langes Stehen in der Nährlösung einen teilweisen Zerfall erleide, wurde folgender Kontrollversuch ausgeführt:

2,234 g Cocainhydrochlorid wurden in ein Reagensglas gefüllt, längere Zeit im Trockenschrank auf 60—80° erwärmt und bei dieser Temperatur das Röhrchen zugeschmolzen. Unter besonderen Vorsichtsmaßregeln wurde es in eine Flasche mit steriler Nährlösung gebracht. Nach drei Monaten war die Flüssigkeit noch vollständig steril geblieben. Sie wurde mit Soda schwach alkalisch gemacht und mit Äther extrahiert. Dieser hinterließ beim Verdunsten 1,988 g reines im Vakuum getrocknetes Cocain. Dies entspricht 2,225 g Cocainhydrochlorid, also praktisch der verwendeten Menge. Wie aus diesem Resultat hervorgeht, ist die Zersetzung in den übrigen Kolben durch die Tätigkeit der Bakterien erfolgt. Cocain wird also in wässeriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur nicht zersetzt.

Ecgonin, $C_9H_{15}NO_3$.

Flasche 28.

Ecgonin mit unbekanntem Pilz.

4 g Ecgonin wurden in 1,5 Liter Nährflüssigkeit C gelöst und einige Tage stehen gelassen. Es hatte sich vor dem Sterilisieren eine so starke Pilzmasse gebildet, daß diese belassen und nach 14 Monaten die Flasche untersucht wurde. Durch mehrmalige Extraktion auch mit sehr viel Äther konnten aber weder aus sauerer noch aus alkalischer Lösung auch nur Spuren von Abbauprodukten isoliert werden. Die Behandlung des Trockenrückstandes mit Alkohol ergab nichts besonderes, sondern den gleichen Sirup wie er nachher auch durch Spaltung der noch mit Phosphorwolframsäure erhaltenen Fällung gewonnen wurde. Dieser Sirup kristallisierte teilweise ganz gleich demjenigen im vorhergehenden Versuch und wie jener bestand er aus Ecgonin und dem nicht kristallisierenden Öl, das wieder ein Goldsalz, F. P. 176°, bildete.

Flasche 27.

Ecgonin und Fäulnisbakterien.

Da sich das Ecgonin vom Tropin nur durch den Mehrgehalt einer CO_2-Gruppe unterscheidet, muß man sich fragen, ob es nicht möglich wäre, aus Ecgonin durch Kohlensäureabspaltung zum Tropin zu gelangen. Mit den für analoge Reaktionen gebräuchlichen chemischen Methoden kommt man aber nicht zum Ziel, weil die Spaltung beim Tropin nicht aufgehalten werden kann, sondern über dieses hinaus immer noch weiter vor sich geht.

In einer Mitteilung in den „Comptes rendus" machen A. Berthelot und M. Bertrand[1] aufmerksam auf einen von ihnen entdeckten Bacillus, den Bacillus aminophylus intestinalis, der in besonders hervorragendem Maße decarboxylierende Wirkung besitzen soll. Es schien nun die Untersuchung wohl wert, zu prüfen, ob es möglich sei mit diesem Bacillus die

---

[1]) A. Berthelot und M. Bertrand, Comptes rendus de l'academie des sciences, Bd. 154, p. 1826.

CO_2-Gruppe im Ecgonin abzuspalten und dieses so in Tropin überzuführen.

Leider war es jedoch nicht möglich, auch nicht von Berthelot und Bertrand selbst, Reinkulturen von Bacillus aminophylus zu bekommen; doch erhielten wir die Mitteilung, daß derselbe in starker Verbreitung unter den Fäulnisbakterien der Bauchspeicheldrüse vorkommt.

Ich impfte deshalb 4 g Ecgonin in 1,5 Liter Nährlösung C mit dem Bakteriengemisch, gewonnen durch Autolyse einer Bauchspeicheldrüse. Nach 14 Monaten waren die Bakterien so entwickelt, daß sie als suspendierter Schlamm fast die ganze Flasche erfüllten.

Weil sich Tropin aus wässeriger Lösung mit keinem Lösungsmittel extrahieren läßt, wurde die Flüssigkeit wegen eventuell noch anderweitig entstandenen Verbindungen alkalisch und sauer mit Äther ausgezogen, jedoch ohne Erfolg. Bemerkenswert erscheint noch, daß bei allen Versuchen, wo Fäulnisbakterien verwendet wurden, beim Extrahieren mit Äther oder auch mit Chloroform, trotz zweimaliger vorhergegangener Filtration der Flüssigkeit, sehr schwer zu trennende Emulsionen sich bildeten, wogegen dies bei den anderen Bakterien oder Pilzen nie eintrat.

Zur weiteren Untersuchung wurde die schwach saure Lösung auf dem Wasserbad auf ein kleineres Volumen eingeengt und sodann direkt mit Phosphorwolframsäure die basischen Stoffe abgeschieden. Der wässerige, vom Baryumhydroxyd befreite Auszug des zersetzten Niederschlages wurde behufs Prüfung auf Tropin zur Trockne verdampft und mit Äther extrahiert, da wasserfreies Tropin darin leicht, Ecgonin dagegen nur schwer löslich ist. Von Tropin war jedoch keine Spur zu finden. Die erhaltene Base bildete anfänglich wieder eine wasserklare sirupöse Flüssigkeit, die aber bald fast vollständig zu kleinen Prismen erstarrte und nur wenige Tropfen unkristallisierbares Öl zurückließ. Letzteres gab wieder das eigentümliche Goldsalz mit dem Schmelzpunkt 176°, während die Prismen leicht als unzersetztes Ecgonin erkannt wurden.

Atropin, $C_{17}H_{23}NO_3$.

Für die Untersuchung der in den verschiedenen Kolben aus dem Atropin entstandenen Körper konnte überall die gleiche Methode verwendet werden, wie sie bereits beim Cocain auch meistens ohne große Abänderungen gebraucht und sich dabei als recht zuverlässig und ebenso einfach, wenn auch etwas mühsam erwiesen hat. Von der Flüssigkeit wurde zunächst der Pilz abfiltriert, getrocknet und auf anorganische oder organische okludierte Verbindungen geprüft. Die mit Soda bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzte Lösung wurde hier mit Chloroform extrahiert, weil sich Atropin darin viel leichter löst als in Äther. Nach Abfiltrieren von dem entstandenen anorganischen Niederschlag, wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert und einmal mit Chloroform, hierauf noch zweimal mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Eindunsten auf dem Wasserbad und Trocknen im Vakuumexsikkator verblieb ein fast weißer Rückstand. Dieser wurde mit kaltem absolutem Alkohol behandelt, darauf in wenig 5% Schwefelsäure gelöst und die noch basischen Bestandteile in Form ihrer Phosphorwolframsäureverbindung abgeschieden, welche dann mit Baryt zerlegt wurde. Diese letzte Operation ist immer sehr zeitraubend, namentlich die Entfernung des überschüssigen Baryumhydroxydes, besitzt aber den Vorteil, daß sofort die freien Basen und zwar sehr rein erhalten werden.

Flaschen 18 und 19.

Atropin und Proteus.

Je 4 g Atropinsulfat blieben mit Proteus geimpft 17 Monate in Nährlösung A stehen. Es wurden wieder zwei Kolben unter denselben Bedingungen angesetzt um zur Untersuchung etwas größere Mengen an Abbauprodukten zu bekommen. Die Farbe der Lösungen war wieder gelb und der stark entwickelte Pilz besaß aber nach dem Trocknen nur ein geringes Gewicht. Beim Öffnen der Flasche fiel sofort ein eigentümlicher Geruch auf, der sich auch in den Kolben bemerkbar machte, die Atropin und Bakterium Coli enthielten.

Der alkalische Chloroformextrakt hinterließ zunächst einen bräunlich gefärbten, stark nach Cocosnußfett riechenden Sirup, der bald zur Hauptsache kristallisierte. Durch Umkristallisieren mit wenig heißem Alkohol resultierten einerseits pro Kolben 3 g farblose Nadeln, F.P. 115°, daneben 3 Tropfen eines braunen Öls. Während die Nädelchen, wie schon der Schmelzpunkt vermuten läßt, reines Atropin sind, gelang es nicht die braune Flüssigkeit, die später nochmals aus Atropin und Bakterium Coli, dort aber in noch geringerer Menge erhalten wurde, zu charakterisieren, da auch insgesamt von allen vier Versuchen, wo sie auftrat, nur wenige, noch unreine Tropfen für die Analyse zur Verfügung standen. In Wasser ist das Öl vollständig unlöslich, ebenso in verdünnten Säuren und Alkalien, dagegen leicht in Alkohol, Chloroform und Äther. Zwecks Reinigung wurde daher seine ätherische Lösung mit Säure, hierauf mit verdünntem Alkali und zum Schluß mit Wasser durchgeschüttelt. Die jetzt beim Verdunsten des getrockneten Äthers zurückbleibende Flüssigkeit zeigte immer noch bräunliche Farbe. Der Geruch war so betäubend, daß er sofort heftige Kopfschmerzen bewirkte. Merkwürdigerweise gibt diese Substanz beim Erhitzen mit Zinkstaub Dämpfe, welche einen mit konz. Salzsäure befeuchteten Fichtenspan rot färben. Für eine Elementaranalyse oder eine Siedepunktsbestimmung war die vorhandene Menge zu gering. Unter den in der Literatur beschriebenen, hier vermutlich in Frage kommenden Abbauprodukten des Atropins und Tropins stimmte keines in den Eigenschaften mit diesem Körper überein.

Aus der angesäuerten Flüssigkeit konnte weder mit Chloroform noch mit Äther etwas gefunden werden, ebenso ergab der Alkoholextrakt des Rückstandes nichts.

Durch Fällen mit Phosphorwolframsäure resultierte eine kleine Menge eines sehr hygroskopischen, fast farblosen Körpers, der nach langem Trocknen im Vakuum zu Kristallen erstarrte, an der Luft aber sofort ölig wurde. Mit Goldchlorid entstand eine Doppelverbindung, F.P. 208°. Die Mischprobe mit aus Tropin, dargestellt durch Verseifen von Atropin[1]),

[1]) A. 138, 233.

gewonnenem Goldsalz, ergab ebenfalls 208°. Das Platinsalz stimmte gleicherweise in Schmelzpunkt und Mischprobe von 202°.

Da Tropin gefunden wurde, sollte auch fast notwendigerweise Tropasäure vorhanden sein, doch hätte diese schon bei der sauren Extraktion herauskommen müssen. Für den Fall, daß sie jedoch dort infolge der großen Flüssigkeitsmenge entgangen wäre, wurde das schwach saure Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung eingedunstet und hierauf nochmals mit Äther behandelt. Aber auch so ließ sich keine Spur einer Säure gewinnen.

Flaschen 16 und 17.

Atropin und Bakterium Coli.

Schon bei Chinin konnte beobachtet werden, daß in kleineren Flaschen die Bakterien sich stärker entwickelten als in großen. Dasselbe wurde hier nochmals bestätigt, allerdings kommt der Umstand dazu, daß in dem großen Kolben auch die Alkaloidkonzentration stärker war, für die Giftigkeit des Atropins vielleicht allzu stark, so daß auch dadurch das Wachstum der Bakterien gehindert wurde.

Die Versuchsdauer betrug in beiden Fällen 17 Monate. Flasche 16 enthielt 2 g Atropinsulfat in 1 Liter Nährlösung A, Flasche 17 dagegen 3 g in 1,5 Liter. Die erste Lösung besaß eine fast schwarze Farbe und sehr starken Geruch nach Cocosfett, letztere war schwach braun und merklich weniger riechend.

Die Extraktion in alkalischer Lösung mit Chloroform lieferte wie bei Proteus viel unzersetztes Atropin und wenig von dem unbekannten Körper. Kolben 17 davon noch weniger als Kolben 16.

Sauer konnte mit Chloroform eine verschwindende Menge einer rot gefärbten in Nadeln kristallisierenden Substanz erhalten werden. Sie ist unlöslich in Wasser und Alkohol, leicht in Äther, Chloroform und verdünnten Alkalien; aus letzteren fällt sie durch Säuren wieder in rötlichen Prismen aus. Es handelt sich augenscheinlich um eine Säure. Tropasäure kommt nicht in Betracht, da diese in Wasser sehr leicht

löslich ist. Die Identifizierung war mit der vorhandenen Menge unmöglich.

Absoluter Alkohol vermochte aus dem Trockenrückstand nichts aufzunehmen.

Dagegen wurde aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag ein weißer, kristalliner Körper gewonnen. Die Kristalle enthielten Natrium und schmolzen bei 236°, waren daher vermutlich das Natriumsalz einer Säure. Das Natrium stammte aus dem verwendeten Baryumhydroxyd, von welchem auch das käufliche „chemisch rein zur Analyse" immer etwas Alkali enthält. Zur Isolierung der freien Säure wurde das Salz mit wenig verdünnter Salzsäure versetzt und da es sich um eine sehr leicht wasserlösliche Substanz handelte, im Vakuum verdunstet. Am Rand der Flüssigkeit bildeten sich rasch schöne Nadeln, Schmelzpunkt 117°. Vergleichshalber wurde Atropin mit Baryt verseift und Tropasäure dargestellt. Diese zeigte sich durch die Mischprobe mit der oben gefundenen vollkommen identisch.

Tropin fehlt hier vollständig.

Flasche 26.

Atropin mit Fäulnisbakterien.

Angesetzt wurden 5 g Atropinsulfat mit Nährlösung B und 16 Monate der Zersetzung überlassen.

Wie bei allen Versuchen mit Fäulnisbakterien blieb auch der Inhalt dieses Kolbens ungefärbt. Ein Geruch wie er bei den ersten Versuchen mit Atropin wahrgenommen wurde, konnte hier gar nicht festgestellt werden.

Der alkalische Chloroformextrakt hinterließ denn auch nur 3,08 g reines Atropin, das sich aus dem Lösungsmittel gleich in Kristallen ausschied und von der braunen Flüssigkeit frei war.

Äther entzog der sauren Lösung nur Spuren von farblosen Nadeln, die eben für eine Mischprobe mit Tropasäure reichten. Deren Schmelzpunkt 117° bestätigte die gehegte Vermutung und da anzunehmen war, daß wahrscheinlich doch

noch mehr davon vorhanden sei, wurde statt wie üblich neutral ganz schwach sauer zur Trockne verdampft. Die Extraktion mit Alkohol ergab nun 0,1 g reine Tropasäure.

Phosphorwolframsäure erzeugte im gelösten Rückstand noch eine starke weiße Fällung. Diese zersetzt lieferte eine dickflüssige Base, die durch ihr Gold- und Platinsalz leicht als Tropin charakterisiert wurde.

Wie leicht ersichtlich, sind hier die Verhältnisse komplizierter und weniger leicht erklärlich als beim Cocain. Merkwürdig bleibt, daß mit Proteus nur Tropin und keine Tropasäure, dagegen mit Bakterium Coli Tropasäure und kein Tropin gebildet wurde: Es wäre denkbar, daß diese Organismen den Kohlenstoff jener Verbindungen zu ihrem Aufbau gebrauchen. Bei diesen beiden entstand zudem noch die neutrale, von Stickstoff freie Flüssigkeit, in Flasche 26 dagegen mit Fäulnisbakterien, wo Tropin und Tropasäure zusammen gefunden wurden, war jene nicht vorhanden. Diese Umstände verhindern einen Schluß zu ziehen über die Herkunft dieser unaufgeklärten Verbindung. Bei Proteus mußte man ihr Entstehen der Zersetzung der Tropasäure zuschreiben, wofür auch das Fehlen des Stickstoffs spricht, bei Bakterium Coli jedoch würde sie vom Abbau des Tropins herrühren.

Daß eine Zersetzung des Atropins infolge seiner leichten Spaltbarkeit erst im Verlaufe der Untersuchung stattgefunden hat, das heißt, daß die Base nicht vollständig mit Chloroform extrahiert und dann dieser zurückgebliebene Anteil bei der Baryumspaltung der Phosphorwolframsäurefällung verseift wurde, ist unmöglich, denn in diesem Fall hätte dort immer Tropasäure und Tropin zugleich gefunden werden müssen. Eine frühere Zersetzung ist undenkbar und zudem wurde durch eine Kontrollbestimmung nachgewiesen, daß Atropin auch aus größeren Flüssigkeitsmengen schon durch zweimaliges Ausschütteln mit der gleichen Menge Chloroform wie Flüssigkeit quantitativ extrahiert wird. Auch der schon beim Öffnen der Kolben bemerkbare Geruch beweist, daß eine Zersetzung bereits vor der Aufarbeitung der Lösungen in den Flaschen eingetreten war.

Flasche 35.

Gleicherweise wie beim Cocain wurden behufs Kontrolle 2,145 g keimfreies Atropinsulfat drei Monate in absolut steriler Nährlösung stehen gelassen. Nach dieser Zeit konnten davon wieder 1,779 g vakuumtrockene Atropinbase zurückgewonnen werden, was 2,136 g Atropinsulfat entspricht.

Auch Atropin wird somit in wässeriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur nicht verändert.

Morphin, $C_{17}H_{19}NO_3$.

Über den Nachweis des Morphins und seine quantitative Bestimmung existieren eine sehr große Literatur und zahlreiche Vorschriften. Sehr viele davon führen aber das Morphin in Derivate über und bestimmen diese oder sind so kompliziert, daß sie hier überhaupt nicht in Frage kommen und bieten zudem auch keine Gewähr, daß durch die vielen Operationen nicht kleine Mengen des Morphins zersetzt werden. In organischen Lösungsmitteln ist Morphin nur sehr wenig bis unlöslich und läßt sich deshalb schwer extrahieren. Von Rübsamen[1]) ist ein Verfahren angegeben, welches darauf beruht, daß Morphinhydrochlorid, in viel Wasser gelöst, in Salzsäure und Morphinbase zerfällt und daß die letztere beim Ausschütteln mit Chloroform in dieses übergeht. In unserem Laboratorium wurde zwar die Methode schon einmal gegrüft und als unbrauchbar befunden[2]). Nach Angaben von Spiro[3]) sollen die Mißerfolge daher rühren, daß die Beschreibung der Methode zu kurz gehalten ist. Er selbst hält sie auf Grund seiner Nachprüfung als brauchbar und gibt eine sehr genaue Beschreibung.

Da nach diesem Verfahren eine Oxydation des Morphins am ehesten vermieden wird, wurde versucht, dasselbe auf diesem Wege zu isolieren.

---

[1]) Rübsamen, Archiv der experimentellen Pathologie und Pharmakologie 59, S. 225.

[2]) Winterstein, Zeitschrift für analytische Chemie 51, S. 597.

[3]) Spiro, Zeitschrift für analytische Chemie 52, S. 68.

Flasche 22.

Morphin und Bakterium Coli.

4 g Morphin wurden während 18 Monaten in Nährlösung A mit Bakterium Coli stehen gelassen. Am Boden der Flasche war neben dem Schlamm der Bakterien ein feines Kristallmehl, das teilweise auch den Wänden anhaftete. Dieses abfiltriert, erwies sich als in Wasser, Säuren und organischen Lösungsmitteln vollständig unlöslich, in verdünntem Alkali konnte es leicht aufgenommen und durch Säuren wieder ausgefällt werden. Einen Schmelzpunkt besitzt die Substanz nicht, verbrennt aber auf dem Platinspatel vollständig. Wie schon aus diesen Eigenschaften hervorgeht, ist es Oxydimorphin. Zur Unterscheidung zwischen Morphin und Oxymorphin wurde das Verhalten der beiden gegen konz. Schwefelsäure und Rohrzucker verwendet. Fröhdes Reagens ist ein empfindlicher Nachweis für beide, ein Unterschied in der Farbe, wie in der Literatur angegeben, schien mir aber auch bei sehr sorgfältiger, mikroanalytischer Ausführung zu wenig zuverlässig. Dasselbe gilt auch für verschiedene andere Farbenreagentien. Der isolierte Körper gab mit konz. Schwefelsäure nach Zusatz eines Körnchens Rohrzucker eine schöne Grünfärbung. Morphin wird damit rosa.

Apomorphin ist ätherlöslich und fällt daher außer Betracht.

Die abfiltrierte Lösung wurde nun genau nach der von Spiro angegebenen Methode mit Chloroform ausgerührt. Diese soll hier nicht näher boschrieben werden, da sie sich später doch als unexakt erwies. Es konnten auf diese Weise 1,7 g Morphinbase, F. P. scharf 230°, isoliert werden. Zwecks Prüfung auf Reinheit wurde sie mit Äther behandelt, um eventuelles Apomorphin zu bekommen. In verdünnter Säure war sie vollständig löslich, Oxydimorphin also nicht anwesend, was noch mit der oben angegebenen Farbenreaktion, die sich auch gut eignet, um im Morphin vorhandenes Oxydimorphin nachzuweisen, bestätigt wurde. Phosphorwolframsäure erzeugte in der auschloroformierten Flüssigkeit einen starken Niederschlag. Nach dem Verdampfen im Vakuum, des vom Baryt mit Kohlensäure befreiten wässerigen Auszuges der Phosphor-

wolframsäurespaltung, blieben 2,20 g feine Nädelchen, Schmelzpunkt und Mischprobe mit Morphin 230°. Auch diese waren frei von Pseudomorphin.

Durch Ausrühren mit Chloroform nach Spiro konnte also nicht einmal die Hälfte des anwesenden Morphins isoliert werden. Um festzustellen, ob die Gegenwart der Salze aus der Nährlösung dieses ungünstige Resultat bewirkt hätten, wurden 0,15 g Morphin mit Salzsäure genau neutralisiert, in 100 ccm Wasser gelöst und wie oben mit Chloroform ausgerührt. Zurückerhalten wurden 0,135 g Morphinbase. Der durch Verdampfen des Wassers erhaltene Rückstand gab mit Fröhdes Reagens noch sehr starke Violettfärbung.

Verwendet:	0,150 g Morphin
Mit Chloroform extrahiert:	0,135 g Morphin
In der Lösung verblieben:	**0,015 g Morphin = 10%.**

Auch Kenzo Tamura[1]), der diese Methode zur Bestimmung des Morphins im Harn verwendete und sie vorher durch Kontrollbestimmungen prüfte, rechnet mit Fehlern von 10%. Abgesehen von dem sehr großen Zeit- und Chloroformaufwand ist also die Methode nicht zu gebrauchen.

Flasche 23.

Morphin und Bakterium Coli.

Flasche 23 enthielt wie im vorhergehenden Versuch 4 g Morphin, war mit Bakterium Coli geimpft und ebenfalls 18 Monate stehen geblieben. Die gewonnenen Resultate sind genau dieselben wie bei Kolben 22. Am Boden hatte sich etwas Oxydimorphin abgeschieden, der größte Teil der Base blieb aber unzersetzt. Den vorhin gemachten Erfahrungen zufolge wurde die Methode des Auschloroformierens hier verlassen.

Kollo[2]) hat nachgewiesen, daß beim Sterilisieren von Morphin in schwach salzsaurer Lösung kein Oxydimorphin

[1]) Kenzo Tamura, Mitteilungen der medizinischen Fakultät der Universität Tokio, 23, 219 (1920).

[2]) Kollo, C. 1920, Bd. III, 387.

entsteht. Zum gleichen Schluß gelangt Zoccola[1]). Nach seinen Angaben soll Morphin beim Sterilisieren unter Zusatz von etwas verdünnter Salzsäure unverändert bleiben. Beim Kochen von Morphin mit .25% Salzsäure dagegen soll Apomorphin entstehen.

Auch die Bildung von Oxydimorphin in alkalischer Lösung durch den Luftsauerstoff erfolgt, wie Brookmann und Polstorf[2]) beobachteten, nur sehr langsam. Es muß noch geprüft werden, ob Morphin auch ohne Bakterien in Nährlösungen Oxydimorphin bildet.

Der gesamte von Oxydimorphin abfiltrierte Inhalt des Kolbens wurde mit Salzsäure schwach angesäuert, auf dem Wasserbad auf ein kleines Volumen eingedunstet und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Aus der Zersetzung des Niederschlages gingen 3,75 g Morphin hervor, in dem weder Apomorphin noch Oxydimorphin nachzuweisen war.

Man darf somit annehmen, daß Morphin gegenüber Mikroorganismen sehr beständig ist, bei längerer Dauer der Einwirkung aber wird es, wenn auch nur in sehr geringer Menge, in Oxydimorphin übergeführt.

Brucin, $C_{23}H_{26}O_4N_2$.

Flasche 20.

Brucin und Proteus.

Flasche 20 enthielt 3 g Brucin in Nährlösung A. Die Versuchsdauer betrug 18 Monate. Brucin ist leicht löslich in Chloroform, deshalb konnte hier wieder das beim Atropin angegebene Verfahren eingeschlagen werden. Vor allem fällt auf, daß der Pilz nur sehr wenig gewachsen ist, Brucin demnach gegenüber Mikroorganismen bis jetzt die größte Giftigkeit aufweist.

Der Inhalt der Flasche alkalisch mit Chloroform extrahiert, ergab denn auch 2,98 g Brucin, als solches gekennzeichnet

---

[1]) Zoccola, C. 1919, Bd. II, 532.

[2]) Brookmann und Polstorf, B. 13, S. 92.

durch die Mischprobe, F.P. 178°, und den Zersetzungspunkt des Pikrolonats 277°. In der konz. Flüssigkeit erzeugte Phosphorwolframsäure nur einen Kaliumchloridniederschlag, ebenso konnte weder mit absolutem Alkohol noch durch saueres Ausäthern ein Spaltungsprodukt gewonnen werden.

Flasche 21.

Brucin und Mesentericus.

Dieser Versuch unterscheidet sich vom vorigen einzig dadurch, daß an Stelle von Proteus Mesentericus geimpft wurde, alles übrige bleibt sich gleich, sowohl die Verarbeitung als die gewonnenen Resultate. Von den 3 g Base sind 2,95 g unverändert zurückerhalten worden.

Brucin widersteht somit der Wirkung von Proteus und Mesentericus vollständig.

Novocain, $NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot COO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot N(C_2H_5)_2$.

Von allen Untersuchungen bereiteten diejenigen der Lösungen, welche Novocain enthielten, die größten Schwierigkeiten. Für die Trennung und Bestimmung des Novocains selbst stehen eine ganze Reihe Mittel und Wege zur Verfügung, dagegen gestaltet sich die Auffindung seiner Spaltungsprodukte, des Diäthylaminoäthanols und der p-Amidobenzoesäure, erheblich mühsamer. Letztere bildet mit Säuren und Basen Salze, wird daraus nur durch Essigsäure in Freiheit gesetzt und läßt sich aber auch dann infolge ihrer leichten Löslichkeit in Wasser nicht ohne weiteres extrahieren. Ein einigermaßen bedeutender Niederschlag entsteht nur mit Bleiacetat. Aus der Fällung läßt sich die freie Säure jedoch sehr unvollkommen abscheiden. Eine empfindliche Farbenreaktion zum qualitativen Nachweis bietet die Diazotierung und Kupplung mit β-Naphthol. Ist Amidobenzoesäure schon ziemlich rein, so läßt sie sich leicht sublimieren. Mit den hauptsächlich aus Zucker bestehenden Verdampfungsrückständen, die hier in Frage kommen, versagte

auch dieses Mittel. Nach vielen mühsamen Versuchen wurde schließlich folgendes Verfahren als das zweckmäßigste erkannt: Die p-Amidobenzoesäurehaltige Lösung wurde schwach essigsauer zur Trockne verdampft. Zur vollständigen Entfernung der letzten Spuren von Wasser wurde der klebrige Rückstand mit warmem, ausgetrocknetem Sand gemischt, im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure stehen gelassen, auf dem Wasserbad wieder aufgewärmt und das wiederholt, bis es möglich war durch Verreiben im Mörser ein staubfeines, trockenes Pulver zu erhalten. Daraus ließ sich die p-Amidobenzoesäure, vermischt mit etwas Essigsäure extrahieren und konnte von letzterer durch Bleiacetat getrennt werden.

Flasche 31.

Novocain und Pyocyaneus.

2 g Novocainhydrochlorid wurden mit Pyocyaneus geimpft und nach acht Monaten verarbeitet. Verwendet wurde Nährlösung C mit Glykokoll. Novocain gibt mit Aurantia (Hexanitrodiphenylamin) schon in Lösungen 1 : 35000 eine Fällung, p-Amidobenzoesäure nur in ganz konz. Lösungen. Zur Entfernung des unzersetzten Novocains wurde daher die gesamte Flüssigkeit neutralisiert und mit Aurantia versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit Salzsäure gespalten. Novocain geht in Lösung und Aurantia scheidet sich unlöslich aus. Aus dem Hydrochlorid wurde die Base durch verdünnte Natronlauge abgeschieden und mit Äther aufgenommen. Sie gibt ein Pikrat, F. P. 152°. Mischprobe mit Novocainpikrat aus käuflichem Novocain F. P. 152°. Die Menge des isolierten Novocains betrug 1,5 g. In der verwendeten Flüssigkeit wurde die überschüssige Aurantia durch Salzsäure ausgefällt. Letztere nach dem Filtrieren neutralisiert, mit etwas Essigsäure angesäuert und zur Trockene verdampft. Durch Behandlung des Rückstandes, wie oben angegeben, wurde ein kristalliner Körper erhalten, der nach dem Sublimieren bei 185° schmilzt; identifiziert als p-Amidobenzoesäure durch das Bleisalz und dem Mischschmelzpunkt 185°.

Flasche 30.

Novocain und Proteus.

Flasche 30 enthielt 2,5 g Novocainhydrochlorid in Nährlösung C. Die Zersetzung dauerte neun Monate.

Von großem Nachteil bei der Trennung des Novocains mit Aurantia ist der sehr schlecht zu filtrierende Niederschlag. Kaliumquecksilberjodid (Brückes Reagens) fällt das Novocain aus seinen Lösungen ebenfalls quantitativ aus. Der Niederschlag besteht aus gelben Prismen, die einen charakteristischen Schmelzpunkt von 128° geben. Das unzersetzte Novocain wurde hier auf diese Weise beseitigt und 2,6 g von dem Doppelsalz mit Brückes Reagens erhalten. Überschüssiges Kaliumquecksilberjodid läßt sich aus der Lösung leicht durch Schütteln mit etwas metallischem Quecksilber entfernen. Es entsteht dabei grünes, unlösliches Quecksilberjodür Hg_2J_2. Noch in Lösung befindliches Quecksilberchlorid muß mit Schwefelwasserstoff entfernt werden. Die Flüssigkeit ließ sich noch diazotieren, es muß somit auch hier noch p-Amidobenzoesäure vorhanden sein. Sie wurde wie oben aus dem Rückstand mit Äther extrahiert und in das Bleisalz übergeführt. Diäthylaminoäthanol konnte nicht isoliert werden; da die Verbindung wasserdampfflüchtig ist, ging sie jedenfalls beim Eindunsten verloren.

Flasche 29.

Novocain und Aspergillus.

Flasche 26 enthält 4 g Novocainhydrochlorid in Nährlösung C, geimpft mit Aspergillus. Nach 9 Monaten wurde der Inhalt des Kolbens untersucht. Novocain und p-Amidobenzoesäure lassen sich durch die Diazoreaktion quantitativ bestimmen und zwar entweder kolorimetrisch aus der Intensität der Farbe, die beim Kuppeln mit β-Naphthol auftritt, oder aus der Menge des zum Diazotieren verbrauchten Natriumnitrits. Es wurde darum versucht auf diesem Wege ein genaues Bild der Zersetzung zu bekommen, da die gravimetrische Bestimmung der p-Amidobenzoesäure unzuverlässig ist.

Das Gesamtvolumen der Flüssigkeit wurde auf 1600 ccm eingestellt. In 100 ccm wurde das Novocain durch Ausäthern entfernt. Durch die zugefügte Natronlauge und nachherige Neutralisation erhöhte sich das Volumen auf 150 ccm, die nun zur kolorimetrischen Bestimmung verwendet wurden.

Die Bestimmung wurde so ausgeführt, daß durch Diazotieren einer bekannten Menge p-Amidobenzoesäure eine Standardlösung hergestellt wurde. 10 ccm der zu untersuchenden Lösung wurden dann mit denselben Mengen Nitrit und β-Naphthol versetzt, auf das gleiche Volumen gebracht und die beiden Lösungen im Kolorimeter verglichen.

Standardlösung:	7 ccm	p-Amidobenzoesäure à 0,004 g
	6 ccm	Salzsäure.
	4 ccm	Natriumnitrit
	17 ccm	Natronlauge
	8 ccm	β-Naphthol mit Wasser zu 50 ccm aufgefüllt.
Lösung A:	10 ccm	p-Amidobenzoesäure, Gehalt unbekannt
	6 ccm	Salzsäure
	4 ccm	Natriumnitrit
	17 ccm	Natronlauge
	8 ccm	β-Naphthol mit Wasser zu 50 ccm aufgefüllt.

Als Mittelwert wurde im Kolorimeter gefunden, daß Farbengleichheit eintrat, wenn die Schichthöhe der Lösung A gerade doppelt so groß war, wie die der Standardlösung, das heißt Lösung A enthält halb so viel p-Amidobenzoesäure als die Vergleichslösung:

50 ccm Standardlösung enthalten: 0,0028 g p-Amidobenzoesäure

50 ccm Lösung A enthalten. . . . $\frac{0{,}0028\ g}{2} = 0{,}0014$ g p-Amidobenzoesäure.

Der Gehalt an p-Amidobenzoesäure in den 1600 ccm Flüssigkeit berechnet sich daraus zu **0,336** g.

Wie aus diesem Resultat hervorgeht, wäre von den 4 g Novocainhydrochlorid nur ein sehr kleiner Teil zersetzt worden. Aus 100 ccm konnten aber durch Ausäthern bloß 0,02 g Novocain erhalten werden, was für den gesamten Inhalt **0,32** g unzersetztes Novacain ergibt.

Dieses Ergebnis zwingt zur Annahme, daß die primär entstandene p-Amidobenzoesäure weiter abgebaut wurde.

Um die Werte der kolorimetrischen Methode zu kontrollieren, wurde nochmals die Menge der vorhandenen primären Aminogruppen durch den Nitritverbrauch beim Diazotieren festgestellt. Die zu untersuchende Lösung wurde dazu mit genügend Salzsäure versetzt und aus einer Bürette so lange von einer mit Kaliumpermanganat eingestellten Nitritlösung zulaufen lassen, bis ein Tropfen der Flüssigkeit auf Jodkalistärkepapier Blaufärbung erzeugte.

Einstellen der Nitritlösung mit Kaliumpermanganat.

0,3145 ccm $\frac{n}{10}$ $KMnO_4$ verbrauchten 5,2 ccm Nitrit.
Mittelwert aus 4 Titrationen.
1 ccm Nitrit entspricht . . . . . 0,0604 ccm $KMnO_4$,
1 ccm Nitrit enthält also . . . . . 0,000142 g HNO_2.

47 g HNO_2 entsprechen . . . . . 1,37 g p-Amidobenzoesäure,
1 ccm Nitrit entspricht . . . . . **0,000414** g p-Amidobenzoesäure.

Direkte Titration der Lösung von Flasche 29.

25 ccm Lösung verbrauchten . . . . . 9,5 ccm Nitrit.
Mittelwert aus 3 Bestimmungen.
100 ccm Lösung verbrauchten also . 38 ccm Nitrit.

Titration der Lösung, nachdem das Novocain durch Extraktion mit Äther entfernt war.

25 ccm Lösung verbrauchten . . . . . 9,37 ccm Nitrit.
Mittelwert aus 3 Bestimmungen.
100 ccm Lösung verbrauchten also . . 37,5 ccm Nitrit.
100 ccm direkt titriert verbrauchten . 38 ccm Nitrit,
100 ccm titriert nach dem Ausäthern 37,5 ccm Nitrit.

In 100 ccm wurden daher für Novocain 0,5 ccm Nitrit verbraucht
= 0,00035 g Novocain
oder die Gesamtlösung, 1600 ccm, enthält **0,0054 g** unzersetztes **Novocain.**

In 100 ccm wurden für p-Amidobenzoesäure 37,5 ccm Nitrit verbraucht
= 0,0155 g p-Amidobenzoesäure
oder in der ganzen Flasche à 1600 ccm: **0,2483** g p-Amidobenzoesäure.

Da praktisch alles Novocain zersetzt ist, müßten aus

4 g Novocainhydrochlorid 2,02 g p-Amidobenzoesäure entstehen.
Die Bestimmung ergab: **0,248** g **p-Amidobenzoesäure.**

Wenn auch die effektiv erhaltenen Werte der beiden Methoden nicht gerade gut übereinstimmen, der Fehler liegt jedenfalls bei der kolorimetrischen, so ergeben praktisch beide beinahe dasselbe Resultat.

Die Bestimmung mit Nitritlösung wurde nachkontrolliert durch Titrieren einer p-Amidobenzoesäurelösung von bekannter Stärke und dabei folgende Resultate erhalten:

Prüfung der Methode zur titrimetrischen Bestimmung der p-Amidobenzoesäure.

Der oben ausgeführten Titerstellung der verwendeten Nitritlösung mit Kaliumpermanganat zufolge zeigten:

1 ccm Nitrit **0,000414** g p-Amidobenzoesäure an.

Zur Kontrolle wurde eine p-Amidobenzoesäurelösung von bekannter Stärke hergestellt und damit der Titer der Nitritlösung geprüft.

Kontrollösung:

250 ccm Lösung enthalten . . . . . 0,1 g p-Amidobensoesäure,
1 ccm Lösung enthält . . . . . 0,0004 g p-Amidobenzoesäure,
15 ccm p-Amidobenzoesäure verbrauchten . . . . . 14,7 ccm Nitrit.
Mittelwert von 4 Bestimmungen.
1 ccm Nitrit diazotiert . . . . . 1,03 g p-Amidobenzoesäurelösung,
= 0,000412 g p-Amidobenzoesäure,
1000 ccm Nitrit eingestellt mit $KMnO_4$ = 0,414 g p-Amidobenzoesäure,
1000 ccm Nitrit eingestellt durch die Kontrollösung . . . . . = **0,412 g p-Amidobenzoesäure.**

Die Methode ergibt etwas zu hohe Resultate, ist aber für den vorliegenden Fall anwendbar.

Das Novocain war somit vollständig zersetzt, was auch durch die Extraktion mit Äther bestätigt wurde, bei der Spaltung ist aber nicht nur p-Amidobenzoesäure und Diäthylaminoäthanol entstanden, sondern sie ist zur Hauptsache anders verlaufen; wahrscheinlich wurde die entstandene p-Amidobenzoesäure weiter abgebaut.

Die noch gebliebene Lösung wurde nun der qualitativen Prüfung unterzogen. Zunächst mußte das Novocain durch Ausäthern beseitigt werden. Nach dem Eintrocknen auf dem Wasserbad und im Exsikkator wurde der saure Rückstand mit Äther ausgezogen. Letzterer hinterließ ein Gemisch von farblosen Kristallen, Nädelchen und Blättchen, daneben einen gelben Körper, dessen Farbe von Eisen herrührte. Zur Trennung wurde die Sublimation im Vakuum benutzt, da die Menge ziemlich gering war. Die erste Sublimationsfraktion bestand aus feinen Prismen. Sie lassen sich diazotieren und schmelzen bei 185°, sind daher p-Amidobenzoesäure. Bei höherem Erhitzen sublimierte der gelbe Körper zugleich mit den Blättchen. Eine Trennung ließ sich so nicht bewerkstelligen und zu weiteren Versuchen fehlte es an Substanz. Vermutlich handelt es sich um p-Oxybenzoesäure. Diese gibt mit Eisenchlorid eine gelbe Fällung, die unlöslich ist in Schwefelkohlenstoff. Die Säure selbst ist darin aber ebenfalls schwer löslich und läßt sich so nicht isolieren. Falls p-Oxybenzoesäure entstanden war, hat sich diese mit dem in der Nährlösung vorhandenen Eisenchlorid verbunden und läßt sich in dieser Form nur schwer nachweisen.

Die Prüfung der Pilze auf okludierte Verbindungen fiel negativ aus.

Eine befriedigende Erklärung war aus diesem Versuch nicht mehr zu gewinnen, es schien aber von Interesse die Sache weiter zu verfolgen. Zu diesem Zwecke wurden nochmals zwei Kolben mit Aspergillus angesetzt. Um aber die Untersuchung einfach zu gestalten, wurde eine besondere Nährlösung ohne Eisen verwendet.

Flasche 32.

Novocain und Aspergillus.

Dieser Kolben enthielt 7 g Novocainhydrochlorid, geimpft mit Aspergillus in eisenfreier Nährlösung D.

Um das Wachstum des Pilzes etwas zu befördern, wurde die Flasche drei Wochen in den Brutschrank gestellt. Insgesamt dauerte die Zersetzung sechs Monate.

Quantitative Untersuchung.

Das Volumen der Flüssigkeit wurde auf 1300 ccm gebracht. Zum Einstellen des Nitrits wurde eine Novocainhydrochloridlösung von bekanntem Gehalt verwendet.

200 ccm Wasser enthielten . . . . . 0,1000 g Novocainhydrochlorid,
9,5 ccm Nitrit diazotierten . . . . . 10 ccm dieser Novocainlösung,
1 ccm Nitrit diazotiert . . . . . 0,00053 g Novocainhydrochlorid oder
0,00027 g p-Amidobenzoesäure.

Direkte Titration der Lösung.

5 ccm von Flasche 32 verbrauchten 49 ccm Nitrit = 0,0244 g Novocainhydrochlorid,
Gesamtvolumen, 1300 ccm, entspricht 6,76 g Novocainhydrochlorid.

Titration nach dem Ausäthern.

10 ccm ausgeätherte Flüssigkeit, entsprechend 5 ccm der ursprünglichen Lösung, verbrauchten . . 8 ccm Nitrit = 0,002 g p-Amidobenzoesäure.
Die ganze Flasche, 1300 ccm, enthält . . . . . 0,50 g p-Amidobenzoesäure.

Die direkte Titration der Lösung gibt die vorhandenen primären Amidogruppen, berechnet als Novocainhydrochlorid an. Wäre bei der Zersetzung nur p-Amidobenzoesäure entstanden, so müßte hier der Wert des angewendeten Novocains herauskommen. Es fehlen aber 0,3 g, ein Betrag, der die Fehlergrenze der Methode bei weitem übersteigt, so daß auch hier angenommen werden muß, daß die Amidobenzoesäure weitere Veränderungen erleidet. Im übrigen wurde, wie ersichtlich, nur wenig Novocain zersetzt, p-Amidobenzoesäure sind 0,5 g entstanden und zwar aus 1 g Novocainhydrochlorid. Dieses vom Ergebnis der ersten Titration abgezogen, ergibt das tatsächlich unzersetzte Novocainhydrochlorid. Seine Menge beträgt 5,76 g.

Die qualitative Prüfung

ergab Novocain und p-Amidobenzoesäure. p-Oxybenzoesäure konnte auch hier bloß vermutet werden, da mit Eisenchlorid eine Fällung entstand; für einen Schmelzpunkt war keine Substanz zur Verfügung.

Flasche 33.

Novocain und Aspergillus. Dieser Versuch ist eine Bestätigung der vorigen Ergebnisse. Novocainhydrochlorid wurden 4 g angesetzt, alle übrigen Daten sind dieselben wie bei Kolben 32.

Quantitative Bestimmung.

Gesamtvolumen der Flüssigkeit = 800 ccm.

1 ccm des verwendeten Nitrits zeigte	0,00041 g Novocainhydrochlorid,
5 ccm der Flasche verbrauchten . .	48 ccm Nitrit = 0,0199 g Novocainhydrochlorid.
Insgesamt in 800 ccm	3,2 g Novocainhydrochlorid, einbezogen die p-Amidobenzoesäure.
20 ccm ausgeätherte Flüssigkeit, entsprechend 10 ccm ursprüngliche Lösung, verbrauchten	28 ccm Nitrit = 0,0056 g p-Amidobenzoesäure,
Im Ganzen in 800 ccm	0,45 g p-Amidobenzoesäure.

Zusammenstellung:

Angesetzt	4 g Novocainhydrochlorid,
noch anwesende Aminogruppen in Novocainhydrochlorid ausgedrückt	3,2 g Novocainhydrochlorid,
gebildete p-Amidobenzoesäure 0,43 g aus	0,9 g Novocainhydrochlorid,
daraus berechnet sich das unzersetzte Novocain	2,3 g Novocainhydrochlorid.

0,8 g Novocainhydrochlorid sind also weiter abgebaut worden.

Qualitative Untersuchung.

Durch alkalisches Ausäthern wurde das Novocain entfernt, dann die Lösung, wie früher beschrieben, essigsauer zur Trockene verdampft und mit Äther extrahiert. Zur Trennung von p-Amidobenzoesäure und p-Oxybenzoesäure wurde die aus dem Äther zurückbleibende dicke Flüssigkeit in etwas Wasser gelöst und mit Bleiacetat Amidobenzoesäure ausgefällt. Zersetzungspunkt der Bleiverbindung und Mischprobe 215—217°. Mit Schwefelwasserstoff wurde das Blei weggeschafft und nach dem Eintrockenen im Vakuum die Essigsäure mit Chloroform aufgenommen, Oxybenzoesäure ist darin unlöslich. Die zurückbleibende weiße, kristalline Substanz gab einen Schmelzpunkt von 214°. Die Mischprobe mit p-Oxybenzoesäure ergab ebenfalls 214°.

Flasche 25.

Novocain und Fäulnisbakterien.

Kolben 25 enthielt 5 g Novocainhydrochlorid in Nährlösung B mit Fäulnisbakterien geimpft. Die Versuchsdauer betrug 16 Monate.

Da die Untersuchung gleich durchgeführt wurde wie bei Flasche 33 und auch dieselben Ergebnisse brachte, sollen diese nur ganz kurz erwähnt werden.

Die abgetrennte Bakterienmasse war frei von eingeschlossenen Verbindungen. Unzersetztes Novocain konnte 1,13 g ausgeäthert werden. Aus dem Trockenrückstand wurden neben erheblichen Quantitäten p-Amidobenzoesäure, abgeschieden als Bleisalz, geringe Mengen p-Oxybenzoesäure isoliert und durch die Mischprobe identifiziert.

Das Novocain wird also verhältnismäßig leichter zersetzt als die anderen Alkaloide. Nach den gemachten Erfahrungen hätte man annehmen können, daß die Spaltung nur in der Verseifung bestehe, also Diäthylaminoäthanol und p-Amidobenzoesäure gebildet würden. Unerwartet ist die Umwandlung der letzteren in p-Oxybenzoesäure, bedeutet aber eine Bestätigung der von Ehrlich[1]) gemachten Beobachtungen. Nach G. Fischer[2]) erfolgt diese Umwandlung chemisch durch Behandlung der p-Amidobenzoesäure mit salpetriger Säure.

---

[1]) Ehrlich, l. c.

[2]) G. Fischer, A. 127, 145.

II. Beitrag zum Schicksal der Alkaloide im Organismus.

Einleitung.

Über die nach Einverleibung von Alkaloiden im tierischen Organismus ausgeschiedenen Abbauprodukte liegen eine große Anzahl beachtenswerter Ergebnisse vor. Wir dürfen wohl annehmen, daß die Entstehung mancher solcher Abbauprodukte bei der Einverleibung per os zum Teil wenigstens auf die Wirkung von Bakterien zurückgeführt werden kann.

Da über diesen Gegenstand wenig Untersuchungen vorliegen, soll der Zweck vorliegender Arbeit sein, zur Aufklärung dieses Problems einen Beitrag zu liefern.

Im ersten Teil wurde nun bereits das Verhalten der Alkaloide gegenüber Bakterien und Pilzen untersucht und dabei namentlich dem Novocain besondere Aufmerksamkeit zugewendet, da über dessen Schicksal im Organismus bis jetzt noch nichts bekannt ist. Der zweite Teil soll nun diese Fragen behandeln, um daraus einen Vergleich zu bekommen zwischen der Zersetzung des Novocains durch Pilze und Bakterien und seinem Abbau im Organismus.

Bei allen dem Körper einverleibten und medizinisch oder auch als Genußmittel gebrauchten Verbindungen wurde immer alsobald die Frage über deren Schicksal im Organismus erörtert. Ein Beweis dafür, wie aber auch für die große Schwierigkeit des Problems, ist die bedeutende über diesen Gegenstand vorhandene Literatur. Namentlich beim Chinin, aber auch beim Cocain, Morphin und Coffein sind diese Verhältnisse vielfach untersucht und immer wieder neue Methoden zur Prüfung der Resultate herangezogen worden.

Es sollen nun von den wichtigsten Alkaloiden die neueren Arbeiten auf diesem Gebiete, soweit uns bekannt, kurz erwähnt werden, hingegen kann es sich hier nicht darum handeln, eine Sichtung der gesamten Literatur über die Ausscheidung von Alkaloiden, mit der die Gewöhnung an dieselben eng verbunden ist, vorzunehmen.

Eine Zusammenstellung der älteren Literatur und der bis dahin gewonnenen Ergebnisse, findet sich in der Abhandlung von A. Heffter[1]), „Die Ausscheidung körperfremder Substanzen im Harn" und derjenigen von W. Hausmann[2]), „Die Gewöhnung an Gifte".

Beim Morphin wurde die Frage erstmals 1830 von Orfila[3]) in Angriff genommen. Daß das Alkaloid im Harn ausgeschieden wird, konnte bald als sicher angenommen werden, da die meisten Autoren im Urin von mit Morphin injizierten Tieren stets Morphin, wenn oft auch nur in sehr geringer Menge nachwiesen. Über die Menge der ausgeschiedenen Base, sowie über Abbauprodukte und die Resorption durch die übrigen Organe berichten die Arbeiten von Tauber[4]), Faust[5]), Cloetta[6]) und Kaufmann-Asser[7]).

Von diesen Arbeiten kann diejenige von M. Cloetta als die wichtigste angesehen werden. Bei dieser Untersuchung wurde das Morphin nach einem sehr zeitraubenden Darstellungs- und Reinigungsverfahren aus verschiedenen Organen als solches dargestellt und zur Wägung gebracht. Nur ein solches Verfahren allein bietet eine sichere Gewähr, daß das abgeschiedene Alkaloid reines Morphin war. C. Wachtel l. c. sagt folgendes: „daneben ist die Sorgfalt der einzelnen Forscher oft wesentlich ausschlaggebend für die Güte der Resultate gewesen". Daß es an der nötigen Sorgfalt bei Cloetta nicht gefehlt hat, geht daraus hervor, daß oft eine Bestimmung 14 Tage erforderte. Die in neuerer Zeit von Kenzo Tamura[8]) erschienene, umfassende Arbeit benützt das Ausrührungsverfahren von Rübsamen, das, wie im ersten Teil dargetan, nicht zu vernachlässigende Fehler gibt.

---

[1]) A. Heffter, Ergebnisse der Physiologie, Bd. 4, S. 283—297, 1905.

[2]) W. Hausmann, Ergebnisse der Physiologie, Bd. 6, S. 59—102, 1904.

[3]) Orfila, zitiert nach Tauber, l. c.

[4]) Tauber, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. 27, S. 336 (1890).

[5]) Faust, ibid., Bd. 44, S. 217 (1900).

[6]) Cloetta, ibid., Bd. 50, S. 453 (1903).

[7]) Kaufmann-Asser, Biochemische Zeitschrift, 54, 161 (1913).

[8]) Kenzo Tamura, Mitteilungen der medizinischen Fakultät der Universität Tokio, 23, 219 (1920).

Die letzte mir bekannte Veröffentlichung auf diesem Gebiete rührt von Kurt Wachtel[1]), dessen Methode auf der Abscheidung mit Phosphorwolframsäure und Titration des so isolierten Morphins mit Ferricyankali beruht. Wachtel prüfte seine Methode durch zahreiche Kontrollversuche, aus denen unzweideutig hervorgeht, daß damit das Morphin als solches quantitativ bestimmt werden kann.

Entstehen aber im Organismus aus dem Morphin noch oxydationsfähige Umwandlungsprodukte, welche mit Phosphorwolframsäure eine Fällung geben, so werden diese nicht als solche erkannt, sondern ebenfalls als Morphin bestimmt.

Das Cocain wird nach den Versuchen von Sonniet-Moret[2]), Glasenap[3]) und Kohlhard[4]) im Organismus fast vollständig zerstört, da sie von dem in den Körper eingeführten Alkaloid nichts oder nur sehr wenig wieder finden konnten. Die letzten von Rifatwachdani[5]) ausgeführten Untersuchungen stimmen hingegen mit den früheren Resultaten nicht überein. Er fand bei Kaninchen 42—45% des Alkaloids im Urin wieder. Eine Zerstörung des Cocains durch längere Berührung mit toten Geweben wurde ebenfalls nicht konstatiert. Ecgonin konnte im Harn nach Cocainverabreichungen nicht gefunden werden, trotz einer für diese Bestimmungen besonders ausgearbeiteten und durch Kontrollversuche als zuverlässig erkannten Methode, mit der es gelang, im Urin eines Kaninchens, dem 0,26 g Ecgonin injiziert wurden, dasselbe nachzuweisen.

Recht komplizierte Verhältnisse über Ausscheidung und Gewöhnung finden sich beim Chinin vor und haben eine große Zahl von Untersuchungen hervorgebracht, die diejenigen beim Morphin weitaus übertreffen. Es würde viel zu weit führen, hier auch nur ganz kurz auf dieselben näher eintreten zu wollen. Eine sehr eingehende kritische Betrachtung der Literatur und Ergebnisse bis in die neueste Zeit hinein, findet sich zusammen-

---

1) Kurt Wachtel, Biochemische Zeitschrift 120, 265 (1920).
2) Sonniet-Moret, Journ. de Pharm. et de Chim. 28, 390.
3) Glasenap, Jahresbericht der Pharmazie 1894, 830.
4) Kohlhard, zitiert nach Heffter.
5) Rifatwachdani, Biochemische Zeitschrift 54, 83 (1913).

gestellt im Heffter[1]), neben der ich nur noch zwei neu erschienene, dort noch nicht behandelte, ausführliche Arbeiten von Löwenstein und Kosian[2]) und E. Boecker[3]), über das Chinin im Organismus, erwähnen möchte.

Ebenfalls im Heffter findet sich eine gründliche Darstellung der Ausscheidungsverhältnisse des Coffeins, der noch eine bedeutende Arbeit von Kwanichiro Okushima[4]) gefolgt ist.

Über das Schicksal, welches das Atropin im Organismus erleidet, sind zuletzt Versuche von Wiechowski[5]), Cloetta[6]) und Heffter[7]) ausgeführt worden. Nach Heffters Ausführungen, welche die von Cloetta teilweise schon gewonnenen Resultate bestätigen, wird ein Teil des Atropins unverändert ausgeschieden, daneben konnte er aber kleine Mengen Tropin und eine unbekannte Base nachweisen. Da nach Heffter auch verfütterte Tropasäure im Organismus teilweise verschwindet, nimmt er an, daß das Atropin zunächst verseift wird und die Komponenten weiter oxydiert werden.

Von Interesse dürfte hier noch die Beobachtung Heffters sein, wonach das Atropin im faulenden Harn eine Zersetzung erleidet. Es gelang ihm im Kaninchenharn, der drei Monate der Fäulnis überlassen war, neben wenig unverändertem Atropin Ecgonin nachzuweisen. Im faulenden Menschenharn soll die Menge des unzersetzten Atropins bedeutend größer sein.

Über die Ausscheidung des Novocains sind, soweit mir bekannt, bis jetzt keine Untersuchungen angestellt worden.

Durch seine Eigenschaft als Lokalanästhetikum hat sich dasselbe, zusammen mit Suprarenin oder Adrenalin, in der

---

[1]) A. Heffter, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 2, S. 42.

[2]) Löwenstein und Kosian, Biochem. Zeitschrift, Bd. 99, 238 (1919).

[3]) E. Boecker, Biochemische Zeitschrift, Bd. 103, 63 (1920).

[4]) Kwanichiro Okushima, Biochem. Zeitschrift, Bd. 129, 563 (1922).

[5]) Wiechowski, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 46, 155.

[6]) Cloetta, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 119 (1908); 427 (1911).

[7]) Heffter, Biochemische Zeitschrift, Bd. 40, 37.

Medizin eine ausgedehnte Anwendung verschafft und dabei alle anderen Ersatzprodukte, sogar das Cocain selbst übertroffen, da ihm neben sehr geringer Giftigkeit auch alle dem Cocain und seinen Ersatzmitteln anhaftende Nebenwirkungen wie schädliche Reizungen usw. fehlen, so daß jetzt überall, wo früher jene verwendet wurden, Novocain gebraucht wird.

Bei den folgenden Versuchen kam uns die geringe Giftigkeit der Verbindung sehr zustatten, da sie ermöglichte, bei den Operationen große Dosen zu verwenden, was für den Nachweis der Spaltungsprodukte von großem Vorteil war.

Experimentelles.

Über die Methoden zur Bestimmung von Novocain und p-Amidobenzoesäure ist bereits im ersten Teil einiges gesagt worden. Die dort eingeschlagenen Wege stammen aber aus den hier gemachten Erfahrungen und wurden dort mit mehr oder weniger Erfolg angewendet. Aus dem Gemisch, das jene Nährlösungen darstellten, ließ sich das Novocain sehr leicht durch Ausäthern gewinnen, mühsam blieb auch dort nur die Isolierung der Spaltungsprodukte. In dem kompliziert zusammengesetzten Harn dagegen war aber die Abscheidung und namentlich der Nachweis von nur Spuren Novocain nicht so einfach. Mit Äther oder Chloroform kann die Base in alkalischer Lösung wohl quantitativ extrahiert werden, sie ist dann aber immer mit aus dem Harn stammenden Verbindungen verunreinigt und kann davon nur schlecht getrennt werden. Kleine Mengen können darin höchstens durch die Diazoreaktion erkannt werden. Zur Isolierung des Novocains wurde auch bei den Pilzen einmal die Fällung mit Aurantia verwendet. Während sie sich dort als unvorteilhaft erwies, da die Extraktion mit Äther viel einfacher war, bietet sie hier ein ausgezeichnetes Mittel, Novocain aus dem Harn direkt zu fällen und auch in minimalen Quantitäten nachzuweisen, da sich der Niederschlag mit Salzsäure sehr leicht wieder zersetzen läßt.

Für die p-Amidobenzoesäure gilt hier das früher schon erwähnte. Es wurde versucht, mit Phosphorwolframsäure den Harn zu fällen, um dann aus dem kleinen Rückstand Amidobenzoesäure leichter herauszubekommen. Trotzdem diese mit Phosphorwolframsäure keinen Niederschlag gibt, wurde bei der Fällung im Harn doch ein erheblicher Teil davon mitgerissen. Ebenso versagten das Ausfällen mit Bleiacetat, Merkurinitrat, sowie die direkte Sublimation des Trockenrückstandes. Ihre Anwesenheit läßt sich auch im Urin immer leicht feststellen durch die Diazoreaktion, da beim Diazotieren von Harn allein keine Färbung auftritt; zur Trennung und eindeutigen Bestimmung bleibt jedoch einzig das Ausäthern des essigsauren, staubigtrockenen Rückstandes. Für die Reinigung kann der Ätherextrakt im Vakuum sublimiert oder die Säure mit Bleiacetat ausgefällt werden.

Empfindlichkeit der Aurantiafällung.

In Natronlauge ist der Niederschlag löslich, unlöslich aber in ganz verdünntem Ammoniak. Mäßig konzentrierte Salzsäure fällt auch Aurantia aus.

0,00008 g	Novocain	HCl	in	1 ccm	Harn		starke Fällung,
0,00004 g	„	„	„	1 „	„		ziemlich starke Fällung,
0,00002 g	„	„	„	1 „	„		noch deutliche Fällung nach einigem Stehen.

Harn bleibt mit Aurantia vollständig klar, während Amidobenzoesäure und Diäthylaminoäthanol nur in ganz konz. Lösungen einen Niederschlag geben.

Wie die Versuche mit Novocain und Aspergillus gezeigt haben, wird dasselbe nicht sehr rasch abgebaut. Da zur Zeit dieser Untersuchungen jene Ergebnisse aber noch nicht bekannt waren, wurde vorerst festgestellt, ob das Novocain nicht im Harn selbst schon eine Zersetzung erleidet. Das Faulen des Urins wurde möglichst verhindert durch Sterilhalten mit Chloroform und Überdecken der Flüssigkeit mit Toluol.

In zwei Versuchen, bei denen je 0,5 g Novocainhydrochlorid in 100 ccm Harn gelöst wurden, konnten nach einigen

Stunden mit Äther in einem Fall 0,41 g Novocainbase = 0,47 g Novocainhydrochlorid und im anderen 0,43 g Novocainbase = 0,49 g Novocainhydrochlorid zurückerhalten werden.

Untersuchungen des Urins nach Operationen, bei denen als Anästheticum Novocain verwendet wurde.

Versuch 1.

Von verschiedenen Patienten, denen man insgesamt 5,5 g Novocainhydrochlorid in jiziert hatte, wurde während 24 Stunden der Harn gesammelt und auf Novocain geprüft.

Durch mehrmaliges Extrahieren mit viel Äther wurde wenig eines gelblichen Rückstandes gewonnen, der mit Salzsäure behandelt wurde. Diese Lösung gab aber beim Diazotieren keine Farbenreaktion. Die Prüfung des Harns mit Aurantia fiel ebenfalls negativ aus. Novocain ist daher nicht anwesend. Der Harn wurde nun mit wenig Essigsäure im Vakuum zur Trockne verdampft, mit etwas warmem Sand vermischt und im Exsikkator bis zu Staub getrocknet und hierauf mit Äther ausgezogen. Der Äther hinterließ eine gelbliche, halbfeste Substanz, die in etwas Salzsäure gelöst, ziemlich stark die Diazoreaktion zeigt, somit Amidobenzoesäure enthalten muß.

Versuch 2.

Einem Patienten wurden bei Operation eines Zwölffingerdarmgeschwürs 2,45 g Novocainhydrochlorid injiziert (70 ccm 2 %ige und 210 ccm ½ %ige Lösung). Der erste Harn nach der Operation, ca. 150 ccm, wurde unmittelbar in eine Flasche mit Chloroform gefüllt und 10 Minuten später verarbeitet. Das zum Sterilisieren verwendete Chloroform gab einen noch fetthaltigen, geringen Rückstand, der diazotiert und gekuppelt mit β-Naphthol stark rot wurde und mit Aurantia eine Fällung gab. Es ist hier also noch unzersetztes Novocain vorhanden, wenn auch nur in geringer Menge. Der Harn wurde 5 mal mit je 700 ccm Äther durchgeschüttelt. Nach Abdunsten

des letzteren blieb ein Öl, das in etwas Salzsäure gelöst und diazotiert keine Spur Rotfärbung zeigte. Im Ätherextrakt des im Vakuum mit Essigsäure verdampften Harns konnte wieder p-Amidobenzoesäure durch die Farbenreaktion nachgewiesen werden. In gleicher Weise wurde der übrige 24stündige Urin behandelt. Novocain war nicht mehr anwesend, dagegen befand sich im Ätherauszug des Trockenrückstandes etwas p-Amidobenzoesäure.

Versuch 3.

Anläßlich einer Magenoperation wurde einem Patienten 2,85 g Novocainhydrochlorid injiziert. Die Einspritzung erfolgte 6 Uhr morgens. Der erste Urin wurde um 2 Uhr nachmittags gelöst und 10 Minuten später untersucht. In dem zur Verhinderung der Fäulnis zugesetzten Chloroform war kein Novocain nachzuweisen, dagegen bewirkte Aurantia im Harn einen ziemlich starken Niederschlag. Er wurde mit verdünnter Salzsäure zersetzt, von ausgeschiedener Aurantia abfiltriert und die Lösung zur Beseitigung der Salzsäure im Vakuum verdunstet. Pikrinsäure erzeugte in der wässerigen Lösung des Rückstandes sofort eine Ausscheidung von länglichen Prismen, F. P. 151—152°. Eine Mischprobe mit Novocainpikrat gab denselben Schmelzpunkt. Die Menge des so isolierten Novocains ist jedoch immerhin sehr gering. Nach dem Abfiltrieren der Aurantiafällung konnte im ätherischen Auszug des eingetrockneten Filtrates auch hier wieder Amidobenzoesäure nachgewiesen werden. Im übrigen, innerhalb 24 Stunden nach der Operation gesammelten Urin, war kein Novocain mehr nachzuweisen, wohl aber mit der Diazoreaktion p-Amidobenzoesäure.

Versuch 4.

Bei der Magenoperation einer Frau wurde dieser um 1 Uhr nachmittags 2,3 g Novocainhydrochlorid injiziert. Nachts um 12 Uhr wurde der erste Harn, ca. 250 ccm, gelöst und 8 Stunden später analysiert.

Das Chloform war frei von Novocain. Mit Aurantia konnte auch nach längerem Stehen nicht die geringste Fällung erhalten werden, Novocain war somit auch hier vollständig abwesend.

Nach der Beseitigung des zugefügten Fällungsmittels mit Salzsäure wurde versucht, aus dem Harn die p-Amidobenzoesäure zu isolieren, um absolut sicher zu sein, daß diese jeweilen die Ursache der erhaltenen Diazoreaktion war. Wie bei den letzten Untersuchungen wurde der Urin eingedunstet und hierauf längere Zeit im Soxhlet mit Äther extrahiert. Letzterer ließ beim Verdunsten einen gelblich gefärbten, noch unreinen Körper zurück. Behufs Reindarstellung wurde er im Vakuum sublimiert, war aber auch jetzt noch nicht vollständig rein. Äther löste aus dem Sublimat eine Substanz, die beim Verdunsten in Nadeln auskristallisierte, sich diazotieren ließ und bei 184° zusammenschmolz. der Mischschmelzpunkt gab das gleiche Resultat. Damit ist bewiesen, daß die nach Entfernung des Novocains im Harn durch Diazotieren und Kuppeln mit β-Naphthol erhaltene Rotfärbung von p-Amidobenzoesäure hervorgerufen wurde. Der Harn der nächten 24 Stunden enthielt nur noch Amidobenzoesäure.

In diesem Fall wurde auch eine dritte Urinprobe untersucht; Novocain war darin ebenfalls nicht nachzuweisen, dagegen ließ die, durch Diazotieren, des aus dem Trockenrückstand gewonnen Ätherauszuges, erhaltene noch deutliche Rotfärbung p-Amidobenzoeäure erkennen.

Versuch 5.

Ein fünfter Patient erhielt 2,6 g Novocainhydrochlorid. 14 Stunden nach der Einspritzung des Anästheticums erfolgte die Lösung des ersten Harns, der 6 Stunden später verarbeitet wurde. Aurantia bewirkte hier wieder einen geringen Niederschlag, der bei näherer Untersuchung und Zersetzung einen weißen, kristallinen Körper ergab. In wenig Wasser gelöst zeigte er stark die Diazoreaktion und gab mit Brückes Reagens eine weiße Fällung, mußte deshalb Novocain sein, da Amidobenzoesäure mit dem Reagens nicht abgeschieden wird.

Die Untersuchung der bis zu 30 Stunden nachfolgenden Urinproben ergab wieder vollständige Abwesenheit von Novocain, dafür aber immer geringe Mengen p-Amidobenzoesäure.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Novocain im Organismus sehr rasch zerstört und höchstens in ganz verschwindend kleinen Mengen als solches ausgeschieden wird. Als Abbauprodukt tritt dabei p-Amidobenzoesäure auf. Was aus der anderen Komponente der Verbindung, dem Diäthylaminoäthanol, wird, konnte vorläufig nicht festgestellt werden. Dieses oder dessen Zersetzungsprodukte im Harn nachzuweisen, wird nicht so leicht und mit ganz erheblichen Schwierigkeiten verbunden sein.

Zur Ausscheidung des Coffeins.

Durch die Freundlichkeit von Hern Prof. Dr. H. W. Maier war es möglich einen Versuch auszuführen, der wohl einiges Interesse beanspruchen darf. Wir erhielten die Milch einer Frau, der vorher Kaffee gegeben wurde zur Prüfung auf Coffein.

Wird Coffein mit etwas Chlorwasser eingedunstet, so gibt der Rückstand nachher mit Ammoniak eine purpurrote Färbung. Um das Coffein aus der Milch zu gewinnen, wurde diese auf dem Wasserbad zur staubigen Trockne verdampft und der Rückstand mit Chloroform extrahiert. Etwas mitgenommenes Fett kann mit Petroläther gelöst werden, hat aber keinen nachteiligen Einfluß auf die Reaktion.

Zur Kontrolle und Bestimmung der Empfindlichkeit wurden 100 ccm gewöhnliche Milch mit 0,001 g Coffein versetzt und wie angegeben auf dem Wasserbad verdunstet. Der nach dem Verdunsten des Chloroforms vorbliebene Rückstand gab mit Ammoniak, nach dem Abdampfen mit Chlorwasser, noch sehr deutliche Rotfärbung.

Die zu untersuchende Milch A (26 g) wurde 4 Stunden nach Einnehmen von ca. 150 g starken Kaffees abgenommen.

Sie wurde wie oben angegeben eingetrocknet und mit Chloroform ausgezogen. Nach dem Verdunsten des letzteren konnte mit der Farbenreaktion keine Spur Coffein konstatiert werden.

Eine zweite Probe Milch, die 24 Stunden nach Milch A abgenommen und gleich wie die erste untersucht wurde, enthielt ebenfalls kein Coffein.

Der erste Kontrollversuch war mit gewöhnlicher Milch ausgeführt worden. Um doch festzustellen, ob sich das Coffein in der Frauenmilch gleich verhalte, wurde der eingedunstete Rückstand der Milch A wieder in Wasser aufgerührt und 1 mg Coffein zugesetzt. In dem wieder eingetrockneten Rückstand war jetzt durch die Chlorreaktion Coffein deutlich nachzuweisen.

Auf Grund dieser Ergebnisse darf angenommen werden, daß die Milch frei war von Coffein. Bei der Ausscheidung des Coffeins aus dem menschlichen Organismus nach Genuß von Kaffee war in diesem speziellen Falle die Milch unbeteiligt.

Zusammenfassung.

I.

Chinin widersteht der Zersetzung durch eine Reihe von Pilzen und Bakterien vollständig. Auch nach jahrelanger Einwirkung war es nicht möglich irgend ein Abbauprodukt nachzuweisen. Aus dem Sulfat setzt Pyocyaneus und Mesentericus die Base in Freiheit, welche vom Pilz kräftig eingeschlossen wird.

Weniger widerstandsfähig ist das Cocain. Durch Pyocyaneus und Mesentericus wird es zu Benzoylecgonin abgebaut. Letzteres ist gegen diese Bakterien ziemlich beständig und wird von ihnen nur zum kleinen Teil in Ecgonin und Benzoesäure gespalten. Die übrigen verwendeten Bakterien zersetzen das Cocain sofort in Benzoesäure, Ecgonin und Methylalkohol. Größte Wirkung zeigten dabei die Fäulnisbakterien. Die von Weinhagen aus Cocain mit Aspergillus und Penicillium erhaltene und von ihm nicht näher identifizierte Base, die auch ich bei verschiedenen Versuchen erhielt, gab ein bisher unbekanntes Golddoppelsalz, aus welchem die charakteristischen Kristalle (F. P. 197°) des Ecgonins erhalten werden konnten. Durch Stehenlassen von Cocainhydrochlorid in reiner Nährlösung erleidet dieses nach 3 Monaten keine Zersetzung. Unter dem Einfluß der Mikroorganismen wird Cocain nur bis zum Ecgonin abgebaut, aber auch dieses für sich deren Tätigkeit ausgesetzt, wird nicht weiter verändert.

Während vom Cocain ca. 5 g Base zersetzt wurden, konnte von dem Atropin die Hauptmenge immer wieder unverändert zurückgewonnen werden. Die verschiedenen Bakterien ergaben hier verschiedene Resultate. Mit Proteus

entstand neben Tropin eine ölige, betäubend riechende Flüssigkeit, die keinen Stickstoff mehr enthält, weder in Säuren noch in Basen löslich ist und nicht näher charakterisiert werden konnte. Bakterium Coli erzeugte die gleiche Verbindung, daneben aber Tropasäure und kein Tropin, während mit Fäulnisbakterin Tropasäure neben Tropin, aber keine Spur der bis jetzt unbekannten Verbindung erhalten wurde.

Aus Morphin entsteht mit Bakterium Coli eine geringe Menge Oxydimorphin.

Brucin wird von Proteus und Mesentericus nicht zersetzt.

Die rascheste Zersetzung erleidet das Novocain. Mit Pyocyaneus und Proteus wurden nur qualitative Versuche ausgeführt und dabei als Abbauprodukt p-Amidobenzoesäure nachgewiesen. Ob dabei auch p-Oxybenzoesäure entstanden ist, kann nicht bestimmt gesagt werden. Bei Aspergillus ergab die quantitative Untersuchung einen Verlust an diazotierbaren primären Aminogruppen. Ein Teil der p-Amidobenzoesäure wurde in p-Oxybenzoesäure übergeführt. Dasselbe Resultat ergab Novocain mit Fäulnisbakterien.

II.

Im menschlichen Organismus wird das Novocain in kurzer Zeit sozusagen vollständig zerstört. Es gelang nur in zwei Fällen, in den ersten Harnproben, nach Injektion von bis 2,5 g Novocainhydrochlorid, ganz geringe Mengen Novocain zu isolieren.

Als Abbauprodukt erscheint p-Amidobenzoesäure; ob diese auch im Körper zu p-Oxybenzoesäure umgewandelt wird, wurde nicht ermittelt.

Bei der Ausscheidung des Coffein aus dem Organismus war die Milch in dem hier untersuchten Fall nicht beteiligt; es gelang nicht, solches nach Genuß großer Quantitäten starken Kaffees darin nachzuweisen.

Curriculum Vitae.

Am 8. Februar 1898 wurde ich in Horgen (Zürich) als Sohn des Bezirksstatthalters Arnold Hotz und der Anna Hotz-Schmid geboren. Bürger von Oberrieden, besuchte ich die Primar- und Sekundarschule meines Wohnortes Horgen und absolvierte hierauf die Kantonsschule in Zürich, wo ich mir das Maturitätszeugnis erwarb. Im Herbst 1916 begann ich mein Studium an der Eidgen. Techn. Hochschule in Zürich, das ich im Herbst 1920 mit der Erlangung des Diploms als Ingenieur-Chemiker beendigte. Vom Herbst 1920 bis zum Herbst 1922 arbeitete ich als Assistent am agriculturchemischen Laboratorium der Eidgen. Techn. Hochschule, in welcher Zeit ich auf Anregung und unter Leitung von Herr Prof. Dr. E. Winterstein die vorliegende Arbeit ausführte. Noch zur Zeit des Weltkrieges im Jahre 1918 und später wieder zweimal während meiner Tätigkeit als Assistent mußte ich mein Studium für einige Monate unterbrechen, um meinen Pflichten beim Militär nachkommen.