Acetyl-Luteolin.

Das Acetat wurde durch kurzes Kochen des Luteolins mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat dargestellt. Es ist ziemlich schwer löslich in Alkohol und krystallisiert aus diesem Lösungsmittel in langen, schönen, seideglänzenden, weißen Nadeln, welche bei 221° schmelzen (Vongerichten 220° bis 222°, Perkin 213—215°, Herzig 221—225°, Kostanecki 222—224°).

Aus dem pharmazeutisch-chemischen Universitätsinstitut
Königsberg.

Zur Gehaltsbestimmung von Chinarine.

Von F. Lehmann und Ph. Palm.

(Eingegangen den 22. VII. 1915.)

Die Laboratoriumspraxis lehrt, daß die Gehaltsbestimmung von Chinarinden immer noch weiterer Klärung bedürftig ist. Wir sind daher auf Veranlassung von Herrn Professor Rupp schon vor längerer Zeit in entsprechende Untersuchungen eingetreten. Da diese durch Kriegsdienst des einen von uns unterbrochen wurden und jüngst von anderen Autoren¹⁾ mehrfache Mitteilungen zur selben Sache erschienen, soll über unsere bislang gemachten Ermittlungen und deren weiteres Ziel kurz berichtet werden.

Die Arzneibuchmethode zur Wertbestimmung der Chinarine beruht auf folgendem Prinzip: Das Rindenpulver wird zur Extraktion der Alkaloide drei Stunden lang mit Chloroform, Aether und Lauge mazeriert. Ein aliquoter Filtratteil der Chloroformätherlösung wird zur Reinigung der Alkaloide mit 1%iger Salzsäure, die salzsaure Flüssigkeit dann nochmals mit Chloroform und Sodalösung und endlich die Chloroformlösung mit $\frac{1}{10}$ -N.-Salzsäure ausgeschüttelt. Der Säureüberschuß wird mit $\frac{1}{10}$ -N.-Lauge unter Anwendung von Hämatoxylinlösung zurückgemessen.

¹⁾ Richter, Apotheker-Zeitung 1915, 254. Frerichs und Mannheim, dieses Archiv 1915, 117. Fromme, Apotheker-Zeitung 1915, 352.

Der bedeutsamste Aenderungsvorschlag hierzu stammt von G. F r o m m e¹⁾). Nach diesem wird das Rindenpulver zunächst mit stark verdünnter Salzsäure durch 10 Minuten langes Erhitzen im Wasserbade aufgeschlossen und dann erst, nach völligem Erkalten, mit der 30 fachen Menge Chloroformäther und Lauge ausgeschüttelt. Ein aliquoter Filtratteil wird auf dem Wasserbade abgedampft, der Rohalkaloidrückstand in Alkohol gelöst und direkt mit $\frac{1}{10}$ -N.-Säure und Hämatoxylin titriert. Nur zur gravimetrischen Bestimmung wird das Alkaloidgemisch zwecks Reinigung einer weiteren Ausschüttelung unterworfen.

F r o m m e's Verfahren spart Zeit und Material. Das sind praktische Vorzüge, um derentwillen sich die Methode großer Beliebtheit erfreut. Das prinzipielle Bedenken F r o m m e's gegen das Arzneibuchverfahren, daß eine vollständige Alkaloiderschöpfung der Droge mit Chloroformäther nur nach einer Säurebehandlung, nicht aber direkt aus alkalischer Mischung erzielbar sei, ist jedoch unhaltbar. Es kann als ausgemacht betrachtet werden, daß das Arzneibuchverfahren mit dem F r o m m e'schen Verfahren übereinstimmende Resultate ergibt. Allerdings bedürfen sehr alkaloidreiche Rinden einer reichlicheren Bemessung der Aetherchloroformmenge; das berührt aber den Kern der Sache nicht. Selbst neutrale Menstruen vermögen eine quantitative Alkaloidextraktion herbeizuführen, wie das spirituöse Fluidextrakt (1 = 1) lehrt. H e r z o g²⁾ erhielt aus einer 5,64%igen Rinde ein 5,61%iges Extrakt.

Nichtsdestoweniger prüften wir aber auch noch experimentell F r o m m e's Annahme³⁾, daß „ohne Aufschluß des Rindenpulvers durch Erhitzen mit verdünnter Säure ein Teil der Alkaloide, und zwar mit steigendem Alkaloidgehalt in steigender Menge, in der Rinde stecken bleibt.“

Damit verbinden ließ sich eine Klärung der dem F r o m m e'schen Verfahren wie der Arzneibuchmethode anhängenden Schwäche, d. i. die Nichtübereinstimmung zwischen titrimetrischem und gravimetrischem Alkaloidbefund bei nur einmaliger Ausschüttelung⁴⁾).

¹⁾ Jahresbericht von C a e s a r & L o r e t z 1911 ff.

²⁾ Berichte der Pharmazeutischen Gesellschaft 1910, 346.

³⁾ Jahresbericht von C a e s a r & L o r e t z 1912, 29.

⁴⁾ Nach unseren zahlreichen Versuchen beträgt derselbe 0,25 bis 0,4%. Unseres Erachtens ist die Differenz zu groß, als daß sie gemeinhin auf das Konto „Verunreinigungen“ gesetzt werden könnte.

Um den Einfluß der Temperatur und der Säure auf den Extraktionsverlauf kennen zu lernen, führten wir folgende Versuche aus, die, abgesehen von den mitgeteilten Abänderungen, in ganz gleicher Weise nach F r o m m e bzw. dem Arzneibuch angestellt wurden.

- a) Rinde + Säure 10 Minuten im Wasserbade erhitzt: 7,8—7,9% Alkaloid.
- b) Rinde + Säure kräftig geschüttelt, 15 Minuten kalt stehen gelassen: 7,3—7,9% Alkaloid.
Rinde + Säure kräftig geschüttelt, 24 Stunden kalt stehen gelassen: 7,8—7,9% Alkaloid.
- c) Rinde + Chloroformäther + Lauge 3 Stunden kalt stehen gelassen: 7,75—7,9% Alkaloid.
- d) Rinde + Chloroformäther + Lauge 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt; nach dem Erkalten bis zum alten Gewicht Chloroformäther ergänzt, kräftig geschüttelt, 10 Minuten stehen gelassen: 7,75—7,9% Alkaloid.

In die Augen springende Unterschiede sind nicht zu verzeichnen. Jedenfalls sind die Resultate nach der Originalmethode von F r o m m e und dem Arzneibuch praktisch übereinstimmend. In einer weiteren Versuchsreihe wurde daher der salzsaure Rinden-auszug nicht, wie F r o m m e es tut, mit der Rinde, sondern nach Entfernung dieser alkalisiert und durch Chloroformäther ausgeschüttelt. So mußte sich zeigen, ob die Salzsäure überhaupt sämtliche Alkaloide aus der Rinde als salzsaure Salze herauszulösen vermag oder ob nicht etwa erst durch den Chloroformäther in alkalischer Mischung vollständige Extraktion bewirkt wird.

- I. 2,5 g Rindenpulver wurden mit 5 g Salzsäure und 45 g Wasser im Wasserbade 10 Minuten lang erhitzt. Nach dem Erkalten wurde filtriert und in einem aliquoten Filtratteil der Alkaloidgehalt in der üblichen Weise ermittelt. Es wurden gefunden 6,35%, also etwa 1,5% weniger als den vorigen Werten entsprach.
- II. Der Versuch wurde mit der Aenderung wiederholt, daß nach dem Erhitzen der Rinde mit Salzsäure heiß filtriert und der Rückstand noch etwa zehnmal mit heißer 1%iger Salzsäure nachgewaschen wurde. Es resultierten hierbei 6,5% Alkaloide als Erstextrakt, 7,5% einschließlich der Nachwaschungen. In der Kälte war ein derart hohes

Resultat bei verschiedenen Versuchsanordnungen nicht zu erzielen, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

	Rinde + Säure	Gefunden Alkaloide	Nach D. A. B.- Fromme Alkaloide
III. 24 Stdn. unter häufigem Schütteln stehen gelassen		5,9—6,0%	7,8—7,9%
IV. 1 Stunde in der Schüttelmaschine geschüttelt		6,0%	7,8—7,9%
V. 1 Stunde unter häufigem Schütteln stehen gelassen		6,0—6,05%	7,8—7,9%
VI. 2 Min. kräftig geschüttelt, dann 15 Min. stehen gelassen		6,0—6,05%	7,8—7,9%

Aus diesen Versuchen erhellt:

1. In der Wärme wird durch Salzsäure aus der Chinarinde eine größere Alkaloidmenge extrahiert als in der Kälte, bei mehrfachem Auskochen annähernd ebensoviel als der Gehaltsbestimmung nach dem Arzneibuch oder Fromme entspricht.
2. Beim Erkalten der salzsauren Lösung wird ein Teil der Alkaloide wieder ausgeschieden.
3. Die durch kalte Salzsäure extrahierte Alkaloidmenge bleibt auch bei verschiedenen Versuchsanordnungen konstant, ist aber um etwa 2% niedriger als die nach Fromme erhaltene.

Also, gerade Salzsäure vermag ganz und gar keine quantitative Extraktion (im Sinne Fromme's) herbeizuführen. Ausschlaggebend dafür ist vielmehr das organische Lösungsmittel Aether-Chloroform bzw. Alkohol beim spirituellen Fluidextrakt in alkalischer oder neutraler Lösung¹⁾.

Welches ist nun der Stoff, der durch Salzsäure kaum oder doch nur außerordentlich schwer auslösbar ist? Hierüber möchten wir auf Grund des vorliegenden Versuchsmaterials zunächst nur Vermutungen anstellen.

Die bei der Gehaltsbestimmung von Chinarinden nach dem Arzneibuch und Fromme gewonnenen „Rohalkaloid“-Rückstände sind gelb bis bräunlich gefärbt und teilweise amorph-harzig.

¹⁾ Fromme extrahiert wohl mit heißer Salzsäure, läßt aber vor der Weiterbehandlung erkalten.

Dasselbe Aussehen hat der aus mehrfacher Heißextraktion mit Salzsäure gewonnene Alkaloidrückstand von Versuch II. Dagegen ist das aus kalter Salzsäure-Extraktion resultierende Rohalkaloid krystallin und fast rein weiß. Da nun die Chinarinden außer den krystallisierbaren Alkaloiden auch amorphe Basen enthalten, die die wesentlichen Bestandteile des aus den letzten Mutterlaugen der Chininfabriken abgeschiedenen Chinoidins bilden, so liegt es nahe anzunehmen, daß durch die Salzsäure-Kaltbehandlung die krystallinen Basen ausgelöst werden, während die bei Weiterbehandlung der Rinde mit alkalischer Aether-Chloroformmischung resultierende und durch die weitere Reinigung hindurchgehende Mehrsubstanz den amorph-alkaloiden Inhaltsstoffen der Rinde zugehört. Damit klärt sich dann auch die Diskrepanz zwischen den Resultaten der gravimetrischen und titrimetrischen Gehaltsbestimmung auf. Das Arzneibuch bezieht letztere auf das mittlere Molekulargewicht der krystallisierten Basen. Die Molekulargröße und Säureaffinität der amorph-basischen Chinastoffe sind unbekannte Größen.

Wenn diese Schlüsse zutreffend sind, so mußte diese Differenz bei einem Verfahren, das nur die in verdünnter Salzsäure löslichen Alkaloide bestimmte, verschwinden oder doch kleiner werden. Ein solches Verfahren haben wir ausgearbeitet als

Bestimmung der säurelöslichen (krystallinen) Chinaalkaloide.

- 3 g Chinarindenpulver werden in einem 100-g-Fläschchen mit
60 g 1%iger Salzsäure 2 Minuten kräftig geschüttelt und 15 Minuten lang unter öfterem Schütteln stehen gelassen. Darauf filtriert man
50 g durch ein mit einem Uhrglase bedecktes Filter in eine 200-g-Flasche, gibt
25 g Chloroform und
50 g Aether zu, schüttelt durch, alkalisiert mit
10 g officineller Natronlauge, schüttelt 2 Minuten kräftig durch und läßt öfters schüttelnd 10 Minuten lang stehen.
Sodann stellt man die Flasche auf den Kopf, läßt die alkalisch-wässrige Flüssigkeit bis auf
2—3 ccm abfließen, fügt
0,5—1 g Traganth zu, schüttelt bis zur Ballung und gießt durch wenig Watte
40 g der Chloroformätherlösung (= 2 g Rinde) in ein gewogenes Kölbchen ab. Darauf destilliert man das Lösungsmittel

auf dem Wasserbade ab, nimmt den Rückstand mit 5 ccm Alkohol¹⁾ auf und verdampft diesen. Nunmehr trocknet man 10—15 Minuten auf dem Wasserbade nach, läßt im Exsikkator erkalten und wiegt.

Wägerückstand $\times 50$ = Prozentgehalt der Rinde.

Zur maßanalytischen Bestimmung löst man den Alkaloidrückstand durch gelindes Erwärmen in 10 ccm Alkohol, fügt 10 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-Salzsäure, 50 ccm Wasser und 3 Tropfen Methylrot ($0,2=100$)²⁾ hinzu und titriert den Säureüberschuß mit $\frac{1}{10}$ -N.-Lauge zurück.

1 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-HCl = 0,0309 g Alkaloid.

Gefundene Alkaloidmenge $\times 50$ = Prozentgehalt der Rinde.

Der so ermittelte Alkaloidbefund von vier verschiedenen Rinden war im Vergleich zum Befunde nach den Verfahren des Arzneibuches und Fromme's folgender:

Rinde	Alkaloidgehalt		
	nach D. A.-B. und Fromme	nach dem abgeänderten Verfahren titrimetrisch	gravimetrisch
I	7,8—8%	6,0—6,1%	6,2—6,25%
II	6,95%	5,4—5,5%	5,5—5,65%
III	7,1%	5,4—5,5%	5,5—5,75%
IV	11,1%	7,1%	—

Man sieht: die Spanne zwischen titrimetrischem und gravimetrischem Ergebnis ist bei unserem Verfahren nur noch eine geringe³⁾.

¹⁾ Fromme läßt mit Aether aufnehmen. Durch Alkohol werden die letzten Chloroformspuren leichter verdrängt. Dieselbe Erfahrung machten Frerichs und Mannheim (l. c.).

²⁾ Ob Methylrot oder Hämatoxylinlösung, bleibe dem Geschmacks des einzelnen überlassen. Jedenfalls erfordert die sichere Führung der Titration mit Hämatoxylin eine Reihe von Kautelen. Pharm. Nederland. 4. II. ist zu Methylrot übergegangen.

³⁾ Der verbleibende Unterschied mag der Berechnungsweise auf das durchschnittliche Molekulargewicht 309 entstammen. Es sei jedoch an Hand einiger Versuche mit reinem Chinin und Cinchonin darauf hingewiesen, daß die letzten Aether-Chloroformreste dem Alkaloidrückstand äußerst hartnäckig anhaften. Die besten Resultate gibt eine Nachdunstung mit Alkohol. Läßt man eine solche Lösung langsam an der Sonne verdunsten, so findet eine weitergehende Zersetzung des Chinins statt. Es resultiert eine harzige braune Masse, das Gewicht steigt erheblich, die Titration gibt zu niedrige Werte. Einige wenige Versuche sollen diese Verhältnisse veranschaulichen:

Ueberraschend und bezeichnend ist, wie stark in alkaloid-reicher Rinde der säureunlösliche Anteil zunimmt.

Ein getreues, sozusagen ins Große übertragenes Abbild unserer Versuchsreihen sind die China-Extraktpräparate. Es ist eine wohl-bekannte, aber keineswegs geklärte Tatsache, daß Chinafluid-extrakte (1 = 1) je nach Darstellungsweise einen weit geringeren bestimmungsmäßigen Alkaloidgehalt aufweisen als die verwendeten Rinden. M a d s e n¹⁾ schreibt geradezu: „Chinarindensorten mit hohem Alkaloidgehalt veranlassen nicht eine Erhöhung des Alkaloid-gehalts eines Präparates“. Unser Arzneibuch fordert bei Rinde 6,5% Alkaloid, bei Fluidextrakt 3,5% Alkaloid minimal. Das schweizerische Arzneibuch fordert von derselben 6,5%igen Rinde ein Fluidextrakt mit 6% Alkaloid minimal.

Das schweizerische Präparat ist nach Zusammensetzung der Perkolationsflüssigkeit ein verdünnt alkoholisches Extrakt, in das sowohl die durch Säure als auch die nur durch Aether-Chloroform extrahierbaren alkaloiden Stoffe übergehen können, welche nach den Bestimmungsverfahren von D. A.-B.-F r o m m e ermittelt werden²⁾. Die bestimmungsmäßigen Alkaloidbefunde in Rinde und Extrakt können sich somit decken (cfr. H e r z o g l. c.). Das deutsche Präparat ist ein salzsauer-wässriges Extrakt und kann demgemäß (auch nach den Bestimmungsverfahren von

Chinin g	Aus Chloroform abgedunstet	Rückstand g	Titration g	Behandlung des Rückstandes
0,169	auf Wasserbad	0,181	0,172	—
0,176	„	0,187	0,180	—
0,169	„	0,174	0,169	mit Alkohol abgedunstet
0,166	„	0,176	0,168	mit Aether abgedunstet
0,161	in der Sonne	0,224	0,123	—
0,172	aus Aetherlösung in der Sonne abgedunstet	0,217	0,156	—

Aehnlich verhält sich das Cinchonin.

¹⁾ Apotheker-Zeitung 1912, 603.

²⁾ Die Bedeutung des organischen Lösungsmittels bleibt F r o m m e hinsichtlich des Alkohols nicht unbewußt. Er verpönt durchaus das Hineinbringen von Alkohol in den Untersuchungsgang und fordert zur Bestimmung alkoholischer Chinapräparate die Ent-geistung, da der Alkohol „indifferente, oft färbende Substanzen auf-löst, die mit durch die Analyse hindurchgeschleppt werden und sich bei der Wägung oder Titration am Ende störend bemerkbar machen“. (Apotheker-Zeitung 1913, 444.) F r o m m e bezeichnet die betreffenden Stoffe zwar als „indifferent“. Das können sie jedoch aber wohl nur sehr bedingt sein, wenn die Titration gestört wird.

D. A.-B.-F r o m m e) keinen größeren Alkaloidgehalt aufweisen, als unserer „Bestimmungsweise der säurelöslichen (krystallinen) Chinaalkaloide“ entspricht.

Unsere Anschauung geht vorläufig also dahin: Sauer-wässrige Chinaextrakte enthalten nur oder so gut wie nur krystalline Alkaloide. Alkoholische Extrakte enthalten die krystallinen und amorphe alkaloide Inhaltsstoffe der Rinde¹⁾. Dies soll die „Arbeitshypothese“ unserer weiteren Untersuchungen sein.

Es wird sich dann zeigen müssen, ob die offiziellen Methoden der Gehaltsbestimmung von Chinarinde, welche doch wohl nur eine Ermittlung der krystallisierten Alkaloide beabsichtigen, einer Korrektur bedürftig sind und ob nicht vielleicht die von den Pharmakopöen des letzten Jahrzehnts verfügte Hinaufsetzung des Alkaloid-Mindestgehalts der Chinarinde weniger eine Folge von Fortschritten in der Cinchonakultur, als der geänderten Bestimmungsverfahren ist.

Zweifellos kommt den gekennzeichneten Dingen eine große Bedeutung in der Chinaalkaloidfabrikation zu. Um so bedauerlicher ist, daß — vielleicht gerade deshalb — die Chininfabriken ihre Erfahrungen und Methoden streng diskret behandeln. Bezeichnend ist, daß sogar die analytischen Verfahren, nach denen die Bewertung der „Fabrikrinden“ erfolgt, geheimgehalten werden²⁾.

¹⁾ Zu denken gibt in diesem Zusammenhang auch eine Mitteilung von H. D i c h g a n s, nach der in einem Beanstandungsfall keine Einigung zu erzielen war, ob ein Extrakt 2,65 oder 4,2 oder nach Gutachten eines holländischen Chinachemikers gar 8,94% Alkaloid enthielt (Apotheker-Zeitung 1912, 193).

²⁾ C a e s a r & L o r e t z, Jahresbericht 1913, 26.