

Über das Spaltungsvermögen von Leberhistozym und einiger Enzyme auf einige Glykoside und Alkaloide.

Von

Dr. **M. Gonnermann.**

Im Anschluss an meine früheren Arbeiten „Über die Verseifbarkeit einiger Amide, Imide usw.“ verdanke ich die Ausführung nachstehender Versuche der Anregung des Herrn Prof. Dr. Kobert, Direktor des Instituts für physiologische Chemie und Pharmakologie, Rostock; Hauptgrund war eigentlich festzustellen, ob aus Sinigrin (myrinsaures Kalium) des schwarzen Senfes im Tierkörper, in diesem speziellen Fall durch Leberhistozym, Allylsenföl abgespalten wird oder nicht. Durch Kobert's Versuche mit Kaninchen in Dorpat ist bekannt, dass, wenn das Sinigrin in die Blutbahn eingespritzt wird, d. h. unter Umgehung des Darmes, sich dasselbe — ob vollständig, ist nicht untersucht — im Harn wieder findet, dagegen wenn dasselbe den Darm passiert hat, bei der Sektion des Versuchstieres ganz allgemein der Geruch nach Senföl auftritt, und Entzündungserscheinungen am Darm erkannt worden sind. Bei den Versuchen mit Sinigrin komme ich hierauf nochmals zu sprechen und bemerke nur noch, dass Sjollem a diese Beobachtung bestreitet, da er bei seinen Versuchen mit Kaninchen Vergiftungserscheinungen, also auch eine Senfölabspaltung, nicht konstatieren konnte.

Bei meinen bisherigen Versuchen verwendete ich ausschliesslich die Leber und Niere vom Schaf; für die vorliegende Arbeit dehnte ich die Untersuchungen auf Lebern von Karnivoren, Herbivoren und Fischen aus, voraussehend, dass die Möglichkeit einer abweichenden Wirkung eintreten könnte. Es reihen sich dann die Versuche mit tierischen und pflanzlichen Enzymen an, sowie solche mit *Bacterium coli commune*, mit Entleerungen normalen und leichten Stuhles (*Cholera nostras*) und Dünndarminhalt von Kaninchen sowie mit

1) Pflüger's Arch. 1902, 1903, 1904.

Bakterienreinzucht aus demselben. Die Ausführung der Versuche war dem Material gemäss keine einheitliche, sondern für jede Gruppe verschiedenartig. Bisher genügte auch zur Sterilisierung des Gemisches sowie zur Ausschaltung der Wirkung des Protoplasmas ein Zusatz von 1% des Gesamtgemisches an Fluornatrium, welches in Substanz zugegeben wurde; den gegenwärtigen Versuchen wurde noch Thymol zugesetzt; bei den Versuchen mit Enzymen und Darminhalt waren solche Zusätze nicht notwendig. Die Versuchskölbchen oder Reagenzgläser standen in einem Digestionsbad von 38° C. 48 Stunden, weil die Gegenwart von Thymol möglicherweise die Histozymwirkung verzögern könnte (sog. Hemmungsmolekül). Da nun auch in Betracht kommen konnte, dass keine vollständige Zersetzung eintritt, so wurde auch der Versuch gemacht, Glykoside und Alkaloide wieder zu gewinnen. Der Beweis der Glykoseabspaltung war erbracht, wenn die chemischen Reaktionen hierfür eintraten und die Glykoside für sich allein mit frisch bereiteter Fehling-Lösung nach sechsstündigem Stehen im Digestionsbad keine Ausscheidung von rotem Cuprooxyd bewirkten.

Der feingewiegten frischen Leber (20,0 g) wurden sofort 1% des Gemisches, 0,3 Fluornatrium und 0,03 Thymol, dann 0,1 der Versuchssubstanz und 10 ccm Wasser zugegeben. Nach beendiger Digestion wurden die Versuche eine halbe Stunde in ein siedendes Wasserbad gestellt, um die Enzymwirkung aufzuheben, das Gemisch heiss koliert, der Rückstand abgepresst und unter Zugabe von Gips zur Trockne eingedampft. Bei den ersten Versuchen wurde der fast staubtrockene Rückstand mit Benzin ausgezogen, um das Fett zu entfernen, und dann fernerhin nach Verdampfung des Benzins mit 75%igem Alkohol ausgeschüttelt, wobei Fluornatrium zurückblieb, die alkoholische Lösung auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und diese Lösung dann weiter untersucht, wie bei den einzelnen Versuchen angegeben ist. Änderungen dieses allgemeinen Verfahrens finden sich bei Cocain und Morphin. Allein es war äusserst umständlich und schwer, unfehlbar die chemische Reaktion, besonders bei den unveränderten Alkaloiden zu erkennen, und so verfuhr ich im weiteren Verlauf der Untersuchungen in der Art, dass ich bei denjenigen Versuchen, welche eine Säure abspalten könnten, sowie bei den Alkaloiden, dem entfetteten Auszug etwas Bikarbonat zufügte, die Lösung also schwach alkalisch machte, mit heissem Isobutylalkohol, welcher die freie Basis löst, dann mit

saurem Wasser ausschüttelte, wodurch die Base dem Alkohol wieder entzogen wurde. Auf diese Weise gelang es leichter, die Gegenwart oder Abwesenheit der Alkaloide nachweisen zu können. Entschieden einfacher ist das Verfahren, wenn an Stelle der Organe Enzyme zur Verwendung kommen; es bedarf auch geringer Mengen Flüssigkeit, wie denn auch die Versuche mit Bakterien sich leicht ausführen liessen.

Die Einteilung der Versuche ist nun folgende:

A. Glykoside. Sinigrin, Arbutin, Amygdalin, Sapotoxin.

B. Alkaloide. Atropin, Cocain, Morphin, Oxydimorphin.

I. Versuche mit Leber. a) Rind, b) Hase, c) Hund, d) Pferd, e) Fisch.

II. Enzyme. 1. Tierische Enzyme. a) Pepsin, b) Pancreatin, c) Trypsin. 2. Pflanzliche Enzyme. a) Emulsin, b) Maltin, c) Invertase, d) Tyrosinase.

III. Darmbakterien. a) *Bacterium coli commune*, b) Darmentleerungen, c) Kaninchendarmbakterien.

A. Glykoside.

Sinigrin.

Über die Spaltbarkeit des Sinigrins im Organismus finden sich in der Literatur ganz divergierende Beobachtungen, und sollen gerade die nachfolgenden ausgedehnten Versuche zur Klärung der offenen Frage beitragen, wie schon am Anfang meiner Arbeit darauf hingewiesen worden ist. Kobert sagt: „Dass im Darmkanal von Tieren mit starker Darmfäulnis (Herbivoren) die beiden Glykoside Sinigrin und Sinalbin selbst bei Abwesenheit von Myrosin, wenn auch langsam, zerlegt werden, kann uns nicht wundernehmen. Sjollema allerdings fand bei innerlicher Darreichung an Kaninchen das Sinigrin unwirksam, weil es gar nicht zersetzt wurde: bei Zugabe des Fermentes trat dagegen der Tod ein.“ — Der letzte Passus ist ja zweifellos richtig, da eben das Myrosin die Spaltung in AllylsenföI bewirkte, während im Verdauungstraktus als solchem eine Zersetzung nicht eingetreten war, und stehen sich also die An-

gaben Kobert's und Sjollemas gegenüber. Bei den Versuchen Kobert's handelte es sich um 0,3—0,5 g Sinigrin, welches Dragendorff in Dorpat dargestellt hatte und nach Verlauf von vier bis sechs Stunden den Tod des Kaninchens bewirkte. Die Sektion ergab Senfölgeluch und Rötung der Darmschleimhaut. Hätte nun Sjollemas recht, so könnte, wie Kobert annimmt, das Dragendorff'sche Präparat nicht ganz frei von Myrosin gewesen sein, wenngleich eine frisch hergestellte wässrige Lösung ganz geruchlos war; denkbar wäre es auch, dass die Kaninchen Dorpat's eine Bakterienart im Darm enthielten, die denjenigen des nordischen Forschers fehlte. Einen bestätigenden Fall finden wir ja in dem Auftreten der Escherich-Bazillus in Italien, von welchem s. Z. viel die Rede war, der nunmehr wohl als ein coliartiger bezeichnet wird; er solle die Ursache der Cholera asiatica sein, dem Koch'schen Spirillum gegenüber, und wurde in den seltensten Fällen in Deutschland bei echter Cholera aufgefunden. Wenn nun weiterhin Kobert¹⁾, mit Umgehung des Darmkanals, Sinigrin ins Blut einspritzte, so trat keine Spaltung, somit auch keine Giftwirkung ein, und er ist der Ansicht, dass allem Anschein nach die fermentative Zerlegung des Sinigrin's den Enzymen des Pflanzenreichs vorbehalten sei.

Nach den Versuchen von Will und Körner²⁾, Ludwig und Lange³⁾ ist Emulsin nicht imstande, Sinigrin zu spalten, wie ich denn auch diese Beobachtung durch meine Versuche bestätigen kann. Da nun Bakterien gleichfalls Pflanzen sind, welche enzymatische Stoffwechselprodukte ausscheiden können, so wurden denn auch dahin zielende Versuche mit *Bact. coli*, normalen und leichten Stuhlentleerungen sowie mit Dünndarmfäkalbakterien von Kaninchen angestellt.

I. Versuche mit Leber.

a) Rindsleber. Nach 48stündiger Digestion war der Geruch nach Senföl nicht bemerkbar, wie ich zunächst annahm, verdeckt durch das Thymol; infolgedessen wurde das Versuchsgemisch eingedampft und die Prüfung auf Glykose ausgeführt. Die Verwendung

1) Über einige Enzyme wirbelloser Tiere. Pflüger's Arch. Bd. 99 S. 167. 1903.

2) Liebig, Annalen Bd. 125 S. 257. 1863.

3) Zeitschr. f. Pharmazie Bd. 3 S. 430, 577.

der Naphtholreaktion war sehr erschwert durch den dunkelgefärbten alkoholischen Auszug, wie auch die aus demselben resultierende wässrige Lösung; ich setzte daher etwas gereinigte Knochenkohle zu und erzielte zwar hierdurch eine gesättigte Weinfarbe. Nach einiger Zeit erschien beim Stehen eine zweifelhafte bläuliche Ringfarbe, und führte ich daher noch die Kupferprobe aus, welche, einige Zeit im Digestionsbad stehend, wiederum zweifelhaft ausfiel, da der eigentliche ziegelrote Niederschlag nicht eintrat. Es schien nach diesen negativen Resultaten wohl möglich, dass das Sinigrin vollständig verseift war, und stellte ich daher eine Probe der Lösung mit Emulsin zusammen in den Digestor; eine Abspaltung von Senföl trat auch hier nicht ein. Wesentlich dürfte bei diesen Beobachtungen sein, dass die Zeitdauer von 48 Stunden gegenüber dem gewöhnlichen Verdauungsprozess eine sehr ausgedehnte war und möglicherweise in kürzerer Zeit — vielleicht in neun Stunden — eine Spaltung nicht eintreten würde, wie dies Nasse konstatiert hat. Aber nach Angaben von Rabateau und Papilion¹⁾ soll nun Natriumsilikat die Wirkung des Myrosin aufheben und wäre nicht ausgeschlossen, dass auch das Fluornatrium hemmend auf den Spaltungsprozess des Sinigrins eingewirkt habe, und ist der Versuch bei Emulsin näher angegeben. Rindsleber spaltet entschieden das Sinigrin nicht. Die negative Wirkung des Emulsins erklären die späteren Versuche.

b) Hasenleber. Dieser Versuch wurde doppelt ausgeführt, einmal mit, das zweite Mal ohne Zusatz von Thymol, weil bei dem Versuch mit Rindsleber der Geruch nach Senföl nicht aufgetreten war und ich diese für mich auffallende Erscheinung, zumal auch der Glykosenachweis unsicher war, darauf zurückführte, es könnte möglicherweise das Thymol den Geruch nach Senföl verdeckt haben. Es trat jedoch in beiden Versuchen eine Spaltung des Sinigrins nicht ein: es entwickelte sich kein Allylsenföl, und in der Flüssigkeit war Glykose nicht nachzuweisen; es schien sich demnach die von Nasse ausgesprochene Ansicht, dass das Sinigrin durch Histozyeme schwerer verseifbar sei als andere Glykoside, zu bestätigen, anderseits glaubte ich, wie schon erwähnt, dass möglicherweise das Fluornatrium ein Hemmungsmolekül für die Einwirkung von Myrosin auf Sinigrin sein könnte; die Versuche sind bei Emulsin mitgeteilt.

Hasenleber ist ohne Einwirkung auf Sinigrin.

1) Deutsche chem. Gesellsch. 1872.

- c) Hundeleber.
- d) Pferdeleber.
- e) Fischleber.

Die Versuche verliefen gleichfalls mit negativem Resultat; es wird eben das Sinigrin durch Leber nicht verseift.

II. Versuche mit Enzymen.

Thierische Enzyme.

Diese Versuche wurden angestellt feststellen zu können, ob und wo eine Spaltung des Sinigrins eintritt, um die Beobachtung Kobert's oder Sjollema's zu bestätigen; sie wurden ausgeführt mit Pepsin, Pankreatin, Trypsin, und beginne ich aus dem Grund mit dem letzteren, weil dasselbe der Streitfrage am nächsten liegt.

a) Trypsin. Das Versuchsgemisch bestand aus 0,1 Sinigrin, 0,1 Trypsin, 25 ccm Wasser unter Zugabe von 5 ccm 3%iger Soda-lösung und kam 48 Stunden ins Digestionsbad. Sollte nun eine Spaltung eintreten, so würden die oben angedeuteten Ausführungen Kobert's richtig sein, aber nicht die zweite Ansicht ganz bestätigen, dass scheinbar nur die pflanzlichen Enzyme befähigt seien, Sinigrin zu verseifen. Tritt nun anderseits durch Trypsin eine Spaltung nicht ein, und hat Kobert den Geruch nach Senföl tatsächlich bemerkt, so müsste diese Spaltung nur durch die Darmbakterien zustande gebracht worden sein. Da nun solche Versuche meines Wissens noch nicht angestellt sind, so unternahm ich deren Ausführung, wie sie später beschrieben sind. Nach einer Einwirkung von 48 Stunden war eine Abspaltung von Senföl durch Trypsin nicht eingetreten.

b) Pepsin. Der Versuch wurde unter Zugabe von physiologischer Salzsäurelösung ausgeführt; Pepsin verseift Sinigrin nicht.

c) Pankreatin. Das Gemisch enthielt gleichfalls einen Sodazusatz; eine Verseifung trat nicht ein.

Will und Körner betonen in Liebig's Annalen, dass Ptyalin keine Spaltung des Sinigrins bewirkt.

Pflanzliche Enzyme.

Emulsin. Über scheinbar negative Einwirkung des Emulsins auf Sinigrin habe ich bei den Versuchen mit Rinds- und Hasenleber berichtet und auf solche mit Emulsin verwiesen. Es wurden nun zu-

nächst Versuche mit Emulsin verschiedener Provenienz und Sinigrin eingeleitet, welchen 1% Fluornatrium zugesetzt war. Aus meiner früheren Arbeit: Über den hemmenden Einfluss fremder Moleküle bei der Wirkung von Histozyten und Fermenten auf Amide und Glykoside¹⁾ ergab sich, dass das Emulsin binnen vier Minuten die Spaltung des Amygdalins, aber erst in 45 Minuten die Spaltung des Salicins bewirkte; es war somit anzunehmen, dass das schwerer verseifbare Sinigrin auch noch längere Zeit bedarf. Nun ergaben auch meine früheren Versuche, dass z. B. Emulsin Kahlbaum, vielleicht wegen seiner schweren Löslichkeit an sich, besonders bei Gegenwart von Salzen viel langsamer wirkte als die Emulsine Merck und Kobert, und soll daher eine kurze Zusammenstellung der Versuche in der Wirkung der Emulsion auf Amygdalin und Salicin bei gleichen Zusätzen von Kaliumchlorid gegeben werden, wobei *m* = Minuten, *h* = Stunde bezeichnen.

Emulsin	KaCl %	Salicin Zeit	Amygdalin Zeit
Merck	0,0	45 m	4 m
	2,5	88 m	3 m
Kahlbaum	0,0	4 h	5 m
	2,5	6 h	10 m
Kobert.	0,0	35 m	2 m
	2,5	62 m	3 m

Hieraus ist ersichtlich, dass das Emulsin Kahlbaum gegen Emulsin Merck bei Salicin 5—4mal, bei Amygdalin 2¹/₂ mal so langsam wirkt.

Die Sinigringemische mit Emulsin Kahlbaum und Merck blieben 36 Stunden im Digestionsbad; da nun nach dieser Zeit auch in den Gemischen ohne Fluornatrium der Geruch nach Senföl nicht eintrat, so stiegen mir Bedenken über den Wert des Sinigrins auf. Infolgedessen stellte ich Gegenversuche an mit frisch bereitetem Mehl aus schwarzem Senf, sowie mit älterem Senfpapier; bei der einen Hälfte der Versuche wurde dem benötigten Wasser wiederum 1% Fluornatrium zugegeben, um die Wirkung desselben beobachten zu können. Nach einer Minute bereits trat in sämtlichen vier Versuchen der Geruch nach Senföl stark auf, so dass also das Fluornatrium ein Hemmungsmolekül nicht ist. Es ist also auch nicht zu verwundern,

1) Pflüger's Arch. 1904.

dass sich bei den Leberversuchen kein Senföl entwickelte, sowie „dass die geringe Ausscheidung aus der Kupferlösung nicht durch vorhandene Glykose bewirkt worden war“. Bei einem Versuch mit Sinigrin und frischer Kupferlösung blieb dieselbe nach 12stündigem Stehen im Digestionsbad unverändert, wie auch anderseits die beiden Arten Emulsin auf Amygdalin nach 4—5 Minuten kräftig einwirkten, aber Sinigrin nicht verseiften.

Ausser der oben angegebenen Ansicht Nasse's bestätigen meine Versuche auch die von Will und Körner sowie auch die Kobert's mit den Enzymen niederer Tiere auf Sinigrin, welche ohne spaltende Einwirkung waren. Von denjenigen pflanzlichen Fermenten, welchen eine spaltende Wirkung des Sinigrins vorbehalten sein könnte, ist entschieden das Emulsin auszunehmen; da nun ferner auch Maltin, Invertase, Tyrosinase ohne jeglichen Einfluss auf Sinigrin waren, so kann ich der oben zitierten Anschauung Kobert's nicht zustimmen.

III. Darmbakterien.

a) *Bacterium coli commune*. Mit einer frischen Reinkultur auf Peptonagar wurde 1 %iges Peptonwasser geimpft und in das Digestionsbad 12 Stunden eingestellt; nach dieser Zeit, in welcher sich die Bakterien kolossal entwickelt hatten, gab ich das Sinigrin, in Wasser gelöst hinzu und stellte nochmals 48 Stunden ins Digestionsbad. Ganz genau so wurden auch die übrigen Versuche mit dem *Bacterium coli* ausgeführt, nur dass sie je nach Bedarf eine Ausdehnung erhielten.

In diesen Versuchen war nun eine Entwicklung von Senföl nicht zu bemerken und erscheint es mir erwiesen, dass *Bacterium coli* nicht fähig ist, eine Spaltung des Sinigrins einzuleiten.

b) Darmentleerungen, menschliche. Von einer normalen, sowie von der breiigen Entleerung eines akuten Darmkatarrhes wurden geringe Mengen entnommen und mit 10 %igem Peptonwasser innigst verrührt und das Reagenzglas in das Digestionsbad gestellt; nach 12 Stunden wurde die Flüssigkeit untersucht und eine enorme Bakterienentwicklung festgestellt. Nun gab ich 0,1 g Sinigrin hinzu und stellte wieder 48 Stunden in das Bad; der als Spaltungsprodukt auftretende Geruch nach Senföl zeigte sich nicht, die Fäulnisbakterien waren also nicht imstande, das Sinigrin zu verseifen, wie auf der anderen Seite das Sinigrin auf die Bakterien

nicht abtötend wirkt, denn im gefärbten Deckglaspräparat waren keine abgestorbenen, ungefärbten Bakterien zu erkennen.

c) Darmbakterien von Kaninchen. Die Versuche mit dem Inhalt des Dünndarms eines Kaninchens blieben resultatlos, allein es wurden dennoch Versuche mit Reinkulturen aus den Fäces eingeleitet. Es ist isoliert worden eine dem Subtilis ähnliche sowie dem Tetanus ähnliche Bazillenart. Zunächst wurde eine Vermehrung in Peptonwasser bei Digestionswärme erzielt und nach zwölf Stunden das Sinigrin zugefügt. Wie vorauszusehen, trat auch durch die Reinkulturen eine Abspaltung von Rhodanallyl nicht ein.

Wie bereits angedeutet, kamen mir Bedenken über den Wert des Sinigrin's, und habe ich mir deshalb Myrosin aus entöltem gelben, Sinigrin aus entöltem schwarzen Senfmehl dargestellt — zeitraubende, viel Alkohol bedürfende Präparate —, nach Vorschriften, welche im pharmazeutischen Institut Breslau unter Prof. Poleck üblich waren.

Myrosin: Das Senfmehl wurde so lange mit 96% Alkohol ausgezogen, bis eine an der Luft getrocknete Probe nach dem Befeuchten mit Wasser selbst nach langem Stehen den Geruch nach Allylsenöl nicht mehr zeigte und auf der Zunge keinen Reiz mehr ausübte. Das vollständig trockne Pulver wurde mit viel reinem Glycerin 24 Stunden im Digestionsbad bei 38° ausgezogen, das Glycerin abgepresst, der Rückstand nochmals mit erneutem Glycerin extrahiert, der Auszug wieder abgepresst, die Auszüge gemischt und 24 Stunden ins Digestionsbad zum Klären eingestellt, dann filtriert, das Filter mit Glycerin nachgewaschen und das Filtrat mit dem vierten Teil absoluten Alkohols vermischt, um zunächst die Eiweissstoffe abzuscheiden. Das Filtrat wurde in dünnem Strahl unter stetem Rühren in das zehnfache Volumen ätherhaltigen Alkohols eingegossen, die flockige Ausscheidung mehrmals mit Alkohol ausgewaschen, dann abfiltriert, der Filterinhalt mit Ätheralkohol nachgespült, abgepresst und auf dem Digestionsbad ausgetrocknet. Fein mit reinem Glycerin verrieben kam das unreine Myrosin 24 Stunden ins Digestionsbad unter kräftigem Umrühren, die durch Absetzen geklärte Lösung wurde in 96% igen Alkohol filtriert, der Niederschlag mehrmals durch erneuten Alkohol ausgesüsst, nach dem Filtrieren getrocknet, nochmals mit Glycerin ausgezogen, wiederholt das Filtrat durch Alkohol gefällt. Das schliesslich erhaltene schwach gefärbte Pulver löste sich leicht in Wasser zu einer schäumenden, wenig opalisierenden Flüssigkeit, welche im Digestionsbad selbst nach Stunden

nicht den Geruch nach Allylsenfö! zeigte — also frei von Sinigrin war. Ein mit diesem Präparat angestellter Versuch mit Sinigrin zeigte, dass, wenn auch nach längerer Zeit als beim Befeuchten von frischem Senfmehl, sich Allylsenfö! entwickelte! Es war also das zu allen beschriebenen Versuchen verwendete Sinigrin noch verseifbar.

Es wäre nach diesem Resultat wohl überflüssig gewesen, auch noch Sinigrin darzustellen, allein, weil die Spaltung des vorliegenden Präparates von grösserer Dauer war, so könnte diese ausgedehnte Spaltungszeit doch wohl von dem Wert des Sinigrins abhängig gewesen sein und würde hierüber frisch dargestelltes Material Auskunft geben.

Sinigrin. Das entölte Pulver von schwarzem Senf freundlichst von Herrn Dr. Diederich, Helfenberg, zur Verfügung gestellt, wurde mit 96 %igem Alkohol eine halbe Stunde ausgekocht, um das Myrosin abzutöten, der Alkohol, welcher auch Sinigrin mit auflöst, wurde schnell abfiltriert und für sich eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und das Filtrat der späteren Sinigrinlösung zugegeben. Das rückständige Senfpulver wurde während zwei Tagen im Digestionsbad mit Wasser ausgezogen — wobei sich kein Allylsenfö! entwickelte —, ausgepresst, die Flüssigkeit durch vorsichtiges Eindampfen etwas konzentriert und unter Zugabe von reinem Baryumkarbonat auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Den Rückstand kochte ich mit immer neuem Alkohol aus, filtrierte die heissen Auszüge und stellte das Filtrat beiseite — wobei das Sinigrin auskristallisierte. Die wässrige Lösung desselben filtrierte ich durch gereinigte Tierkohle, dampfte etwas ein und brachte den Rest in den Exsikkator; der hierbei erzielte Rückstand wurde mit Alkohol ausgekocht und das heisse Filtrat der freiwilligen Verdunstung überlassen.

Da nun, wie schon hervorgehoben, das Sinigrin der Versuche durch Myrosin leicht verseifbar war — nach fünf Minuten war der Geruch nach Allylsenfö! deutlich wahrnehmbar —, so kann die Beobachtung Kobert's nur darauf zurückzuführen sein, dass einmal das verwandte Sinigrin nicht absolut frei von Myrosin gewesen ist, oder dass eben in dem Darminhalt des Kaninchens in Dorpat Bakterien enthalten waren, welche sich in den von mir benutzten Fäkalmassen des Dünndarmes eines Kaninchens nicht vorfanden.

Ich kann also die Angaben von Sjollem a nur bestätigen, wenngleich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass auch bei unseren

Kaninchen sich Bakterien im Kot finden können, welche eine dem Myrosin ähnlich wirkende Spaltung des Sinigrins bewirken.

Arbutin.

In seiner umfangreichen Arbeit¹⁾ hat Grisson ausführlich die vorhandene Literatur über die Spaltbarkeit des Arbutins mitgeteilt, woraus sich ergibt, dass dasselbe sehr ausgedehnten Beobachtungen unterzogen worden ist; seit jener Zeit sind umfangreiche Untersuchungen wohl nur von Kobert²⁾ ausgeführt worden. Da dasselbe bei den Spaltungsprozessen in Dextrose und Hydrochinon, zwei rechtsdrehende Körper, zerfällt, selbst aber linksdrehend wirkt, so ist eine eingetretene Zersetzung leicht nachzuweisen, entweder durch die Kupfer-, Silber- oder Eisenreaktion oder auf polarimetrischem Weg, wenn Hydrochinon durch Äther ausgezogen wird.

Grisson gibt an, dass derjenige geringe Teil des Arbutins, welcher, nach seiner Ansicht, nicht bereits im Magen resorbiert ist, zweifellos im Darm gespalten wird; jedenfalls genüge die Darmfäulnis hierzu schon für sich allein, indem aus den Filtraten der faulenden Flüssigkeiten durch Äther grosse Mengen Hydrochinon ausgezogen werden. Hierzu möchte ich jetzt bereits bemerken, dass menschlicher Darminhalt sowie *Bacterium coli commune* Spaltungsprozesse nicht einleiten. Bei interner Eingabe wird das Arbutin nicht vollständig verseift, sondern ein Teil findet sich nach Lewin im Harn unzersetzt wieder. Feibes gibt dies jedoch nicht zu und glaubt, die bei Arbutingenuss eintretende Dunkelfärbung des Harns beim Stehen an der Luft nicht der Umwandlung der Hydrochinonschwefelsäure, vielmehr einer spontanen Zersetzung des im Harn ausgeschiedenen unzersetzten Arbutins zuschreiben zu können.

Grisson stellte seine Versuche mit Leber und Niere von Kaninchen, Katze und Hund an und konnte überall die eingetretene Spaltung nach Verlauf einiger Stunden beweisen; er kochte die Digestionsmasse auf, schüttelte die Filtrate mit Äther aus, verdampfte den Äther, nahm den Rückstand mit Wasser auf und prüfte mit Silberlösung oder Fehling. Genauere Resultate erzielte er beim Eindampfen des Filtrates mit Sand und Ausziehen der trocknen Masse mit Äther im Soxhlet. Ausserdem ergaben seine Versuche, dass Hundelunge,

1) Dissert. Rostock 1887. Über das Verhalten der Glykoside im Tierkörper.

2) Über einige Enzyme wirbelloser Tiere. Pflüger's Arch. Bd. 99 S. 157.

Katzenlunge und Katzenmilz gleichfalls das Arbutin spalteten, während Kaninchenlunge und das Muskelfleisch des Hundes, Kaninchens, der Katze unwirksam waren.

Das von mir benutzte Arbutin war von Merck-Darmstadt bezogen, gab für sich mit frisch bereiteter Fehlinglösung weder beim schwachen Erwärmen auf 38° C., noch bei sechsständigem Stehen eine Ausscheidung von Cuprooxyd und reduzierte Silberlösung nicht, wurde aber durch Eisenchloridlösung blaufärbt.

I. Versuche mit Leber.

a) Rindsleber. In der resultierenden Versuchsflüssigkeit wurde auf Glykose mit α -Naphthol geprüft. Die Reaktion trat deutlich und zweifellos ein; Kupfer- und Silberlösung wurden reduziert; es wird also das Arbutin durch Rindsleberhistozym verseift. Die Angaben von Feibes, dass sämtliches eingegebenes Arbutin sogar polarimetrisch im Harn bestimmt werden kann, kann ich ebensowenig bestätigen wie Grisson. Kobert berichtet über die Spaltung des Arbutins durch Extrakte der Avertebraten: Kreuzspinne, Maikäfer, Ameisenpuppen, Askariden u. a. m.

b) Hasenleber. Das durch die Abspaltung entstehende Hydrochinon geht seiner leichten Löslichkeit im Wasser wegen nicht beim Ausschütteln in den Äther über, wie ich mich überzeugen konnte, da Eisenchloridlösung eine Blaufärbung nicht hervorrief. Dem von Fett befreiten Rückstand wurde etwas gereinigte Knochenkohle zugegeben, derselbe dann mit 75 %igem Alkohol ausgezogen, um das Fluornatrium zurückzuhalten, und das Filtrat mit Kupfer- und Silberlösung geprüft; mit Fehling trat die Reaktion nach kurzem Erwärmen ein, mit ammoniakalischer Silberlösung entstand sofort ein schwarzer, sametartiger Niederschlag, welcher die Gegenwart von Hydrochinon kennzeichnete.

c) Hundeleber. Von jetzt ab wurde zum Ausziehen der Alkaloide Isobutylalkohol angewandt. Der mit Gips eingetrocknete Digestionsauszug wurde mit 75 %igem Alkohol ausgeschüttelt, das Filtrat auf dem Wasserbad eingedampft und der Rückstand in Wasser gelöst. Aus den Reaktionen ergab sich, dass Hundeleberhistozym ganz energische Spaltung des Arbutins bewirkt.

d) Pferdeleber. Auch hier ist eine Verseifung des Arbutins festgestellt worden.

e) Fischleber. Des bedeutenden Fettgehaltes der Fischleber wegen wurde der mit Gips eingedampfte Digestionsrückstand des öftern mit Benzin ausgeschüttelt — dies gilt natürlich auch für alle nachfolgenden Versuche —, welches nur ganz geringe Spuren, oder auch gar nichts, der angewandten Substanzen aufnimmt. Von Kobert sowie auch von anderer Seite wird betont, dass bei kalten Versuchsgemischen mit Organen kaltblütiger Tiere eine sehr geringe Enzymwirkung beobachtet wird, und so konnte auch diese Versuchsreihe 48 Stunden im Digestionsbad von 38° C. ohne Nachteil verbleiben.

Die Verseifungsgeschwindigkeit des Fischleberhistozyms scheint eine sehr geringe zu sein, denn die ammoniakalische Silberlösung wurde zunächst nur bräunlich gefärbt, und auch beim Erwärmen trat erst eine geringe schwarze Ausscheidung ein.

II. Versuche mit Enzymen.

1. Tierische Enzyme.

Hier ist eine Bemerkung einzuschalten, welche bei den Versuchen mit Sinigrin versäumt wurde anzugeben.

Bei allen Versuchen kommen die schon früher zur Verseifung einiger Amide, Imide usw. benutzten Fermente Pepsin, Pankreatin und Trypsin in Betracht. Da nun die Wirkung des Pepsins in schwach salzsaurer Lösung energischer auftritt, und die allerdings äusserst geringe Menge Salzsäure ($\frac{2}{1000}$) möglicherweise mit der Dauer der Digestion doch als solche spaltend einwirken könnte, so wurden bei den Glykosiden zwei Parallelversuche eingeleitet — der eine mit Pepsin und Säure, der andere nur mit der gleichen Menge Säure; bei den Trypsin- und Pankreatinversuchen wurden 5 ccm einer 3%igen Sodalösung, für Pepsin 15 ccm der physiologischen Salzsäure zugegeben. Fluornatrium war bei dieser Versuchsreihe überflüssig. Die Einzelgemische bestanden aus je 0,1 Spaltungsmaterial, 0,1 trockenes Ferment, oder je 20 Tropfen Maltin-, und Invertinglycerinlösung auf 30 mit Wasser gebracht. Nach dem Aufkochen wurde filtriert, das Filtrat nach dem Neutralisieren auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit Ätheralkohol ausgezogen, und die Lösung freiwillig verdunsten lassen oder, wenn möglich, die Reaktionsprodukte direkt nachzuweisen versucht.

a) Pepsin. In beiden Kontrollversuchen war eine Verseifung nicht eingetreten.

b) Pankreatin. Durch die Alkalität der Lösung erschien in allen Versuchsgemischen ein mehr oder weniger auftretender voluminöser Niederschlag, die Gemische wurden nach dem Aufkochen filtriert und das klare Filtrat sowie der Filtrerrückstand für sich näher untersucht.

Arbutin wird durch Pankreatin nicht verseift.

c) Trypsin ist auf Arbutin ohne spaltende Wirkung; es wird also die Ansicht Grisson's hierdurch bestätigt.

2. Pflanzliche Enzyme.

Hier sind ausser den bei meinen früheren Versuchen benutzten Fermenten Emulsin, Maltin, Invertin, zum Teil auch Rübeninvertase und Tyrosinase in das Bereich der Untersuchungen gezogen worden.

a) Emulsin: starke und schnelle Spaltungsenergie; Silberlösung wurde in der Kälte sofort tiefschwarz gefärbt.

b) Maltin ist ohne Einwirkung, auch bei 75 ° C.

c) Invertin
d) Invertase } sind wirkungslos.

e) Tyrosinase. Der Name stammt von Bertrand, welcher kurz vor mir den Ursprung der Dunkelfärbung der Rübensäfte auf die Einwirkung eines Fermentes, einer Oxydase, die Tyrosinase auf Tyrosin zurückführte. Das von mir hergestellte Ferment ist jedoch keine Oxydase, sondern ein hydroxylierendes, denn die Umwandlung des Tyrosins in den Zuckerrüben in die von mir erkannte und isolierte Homogentisinsäure¹⁾ erfolgt nicht durch eine Oxydation, die Säure selbst ist farblos (Hydrochinonessigsäure) und wird erst in Lösungen durch den Sauerstoff der Luft kirschrot bis blauschwarz — in evakuierten Röhren bleibt die Lösung auch farblos —, ganz ähnlich wie eine Auflösung von Pyrogallol an der Luft, besonders bei Gegenwart von Alkali schnell dunkel wird.

Tyrosinase wirkt äusserst kräftig spaltend auf Arbutin ein unter Abscheidung von metallischem Silber in ammoniakalischer Lösung.

III. Darmbakterien.

a) *Bacterium coli*. Der Name ist ein Sammelbegriff für eine ganze Anzahl Bakterien, welche dem eigentlichen *Bact. coli*

1) Pflüger's Arch. Bd. 82 S. 289. 1900.

commune sehr ähnlich sind; diese finden sich überaus häufig und üben ganz verschiedene Wirkungen aus, wie z. B. eine auch von mir beobachtete Coliart nicht fähig ist, Saccharose direkt zu vergären, während andere Arten diese Fähigkeiten besitzen. Die vorliegenden Versuche wurden mit echtem *Bact. coli commune* ausgeführt, dessen Reinzucht ich dem pathologischen Institut hier verdanke; dieses Bacterium leitet keine Spaltung des Arbutins ein.

b) Darmentleerung, menschliche. Das Verfahren war wie bei Sinigrin angegeben; eine Spaltung trat nicht ein.

Wenn Grisson die Ansicht ausspricht, „dass jedenfalls die Darmfäulnis schon für sich genügt, Abutin zu spalten, wie aus seinen Versuchen zur Evidenz bewiesen werden soll, so gilt dies nicht für den menschlichen Organismus.

c) Darminhalt und Darmbakterien von Kaninchen. Der Inhalt des Dünndarmes sowie die beiden aus demselben isolierten Bakterienarten *Bacillus subtilis* und *tetaniiformis* bewirkten nach Ablauf der Digestionszeit eine sofortige Reduktion der ammoniakalischen Silberlösung: Spaltungsprodukt Hydrochinon.

Amygdalin.

Nach den Untersuchungen von Morriggia und Ossi wird das Amygdalin durch die Enzyme des Dünndarmes und Cöcums gleich einer Emulsinwirkung verseift und die Giftwirkung des Amygdalins bedingt; Grisson neigt zu der Ansicht, dass das Glykosid im Darm lediglich durch Fäulnisprozesse gespalten wird. Fubini und Gerard stellten fest, dass der Dünndarm der Kaninchen Emulsion absondert, und nicht das Pankreas. Auf die umfangreichen Versuche Kobert's¹⁾ über einige Enzyme wirbelloser Tiere kann hier nur verwiesen werden, wobei eine ganze Reihe Spaltungserscheinungen beobachtet worden sind.

Aus meinen nachfolgenden Versuchen geht hervor, dass das Amygdalin im ganzen sehr schwer verseifbar ist, wie schon Nasse darauf hingewiesen hat, aber Trypsin aus demselben Benzaldehyd abspaltet, während Darmbakterien nur zum Teil eine Abspaltung bedingen.

1) Pflüger's Arch. Bd. 99 S. 146. 1903.

I. Versuche mit Leber.

a) Rindsleber. Bei meinen ersten Versuchen über die Spaltbarkeit des Amygdalins durch Schafleber¹⁾ hob ich hervor, dass, gegenüber der Ansicht Grisson's, „dasselbe würde mit alleiniger Ausnahme des Intestinaltraktes im tierischen Organismus nicht zersetzt“ — nach 1¹/₄ stündiger Digestion bei 38° C. der Geruch nach Benzaldehyd ganz intensiv auftrat. Bei den gegenwärtigen Versuchen mit Rindsleber unter Zugabe von Thymol war eine Spaltung selbst nach 48 Stunden insofern nicht bemerkbar, als der Geruch nach Benzaldehyd nicht erkannt werden konnte, und möglicherweise der intensive Geruch des Thymols den des Benzaldehyds verdecken konnte. Zum Gegenbeweis wurde dem Gemisch eine Probe entnommen, mit Emulsin vermischt und ins Digestionsbad eingestellt. Nach meinen früheren Beobachtungen tritt die Spaltung des Amygdalins durch Emulsin in zwei bis fünf Minuten ein, in diesem Fall war nach einer Viertelstunde der Geruch nach Benzaldehyd nicht eingetreten — es konnte somit das Thymol nur stark hemmend wirken. Deshalb wurde das gesamte Versuchsgemisch aufgeköcht, mit Gips auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, durch Tierkohle entfärbt und auf Zucker und Amygdalin geprüft; es trat mit α -Naphthol sofort die charakteristische Blaufärbung ein; Kupferlösung wurde reduziert, und ein Versuch mit Emulsin entwickelte kein Benzaldehyd, es war also als erwiesen anzusehen, dass nach längerer Digestionsdauer — bedingt durch die Gegenwart von Thymol Rindsleberhistozym verseifend auf Amygdalin einwirkt.

b) Hasenleber. Fussend auf das langsame Spaltungsvermögen des Histozyms der Schafleber bei gewöhnlicher Temperatur sowie auf den grossen Hemmungswert des Thymols bei Rindsleber, leitete ich jetzt zwei Versuche ein — einen solchen mit und einen ohne Thymolzusatz; bereits nach 16 stündiger Digestionsdauer trat in dem Versuch ohne Thymol der unverkennbare Geruch des Benzaldehyds ganz deutlich auf, immer mehr zunehmend, während bis zum Schluss der Digestionszeit im Gemisch mit Thymol der Bittermandelölgeruch nicht wahrnehmbar war; Glykose war jedoch nachweisbar.

c) Hundeleber. Das Histozymp der Hundeleber wirkt nicht verseifend auf Amygdalin.

1) Pflüger's Arch. 1904.

- d) Pferdeleber ist gleichfalls ohne Einwirkung.
- e) Fischleber wirkt nicht verseifend.

II. Versuche mit Enzymen.

1. Tierische Enzyme.

- a) Pepsin: verseift Amygdalin nicht,
- b) Pankreatin: ohne Einwirkung,
- c) Trypsin: im Verlauf von 48 Stunden tritt kräftiger Geruch nach Benzaldehyd auf; es bedarf also nicht der Gegenwart von Darmfäulnis.

2. Pflanzliche Enzyme.

- a) Maltin ist ohne Einwirkung selbst bei einer Temperatur von 75°, bei welcher das Maltin am besten wirkt.
- b) Emulsin: bekanntlich leicht verseifend je nach der Provenienz des Präparates, wie aus meinen früheren Beobachtungen hervorgeht.
- c) Invertin: nach Grisson wirkt Invertin der Hefe nicht auf Amygdalin ein, meine Versuche bestätigen dies.
- d) Invertase ist gleichfalls ohne Einwirkung.
- e) Tyrosinase. Es dürfte wohl von grossem Interesse sein, dass das so schwer verseifbare Amygdalin durch Tyrosinase bereits während 24 Stunden eine kräftige Abspaltung von Benzaldehyd erleidet.

III. Darmbakterien.

a) *Bacterium coli commune*. Wenn dieses Bakterium zu den Fäulnisorganismen gerechnet wird — solange es in dem Darminhalt sich vorfindet, so bestätigt sich Grisson's allgemein gegebene Ansicht nicht, denn es ruft in Amygdalinlösungen keine Verseifung hervor.

b) Darmentleerung, menschliche; in den Versuchen war weder der Geruch nach Benzaldehyd wahrnehmbar, noch trat die Blausäurereaktion ein.

c) Darminhalt und Darmbakterien von Kaninchen. In dem Versuch mit Dünndarminhalt trat bald der Geruch nach Benzaldehyd auf und es liess sich Blausäure nachweisen. Demnach war anzunehmen, dass auch die aus den Fäkalien isolierten beiden Bakterien nicht wirkungslos sein konnten.

Bacillus subtiliformis liess nach 48 Stunden schwachen, aber deutlichen Geruch nach Benzaldehyd erkennen;

Bacillus tetaniformis spaltete nach kaum 20 Stunden kräftig Benzaldehyd ab.

Sapotoxin.

Über die toxische Wirkung der Saponinsubstanzen hat Kobert ausführliche Versuche angestellt und darüber berichtet¹⁾. Bei den nachfolgenden Versuchen mit Sapotoxin war eine Spaltung insofern leicht nachzuweisen, da zu den Spaltungsprodukten eine Glykose gehört, und Sapotoxin für sich aus Kupferlösung kein Cuprooxyd ausscheidet. Kobert gibt in seinen „Intoxikationen“ an, dass bei Versuchen mit Spaltpilzen darauf zu achten sei, ob aus den Saponinsubstanzen — für sich wasserlöslich — das unlösliche Saponin entsteht. Direkte Spaltungsversuche in Art der meinigen sind noch nicht ausgeführt.

I. Versuche mit Leber.

a) Rindsleber. Nach kurzer Einwirkung der gebrauchsfähigen Versuchsflüssigkeit auf frische Kupferlösung bei gelinder Digestionswärme schied sich rotes Cuprooxyd aus; es wird also durch das Hystozym der Rindsleber aus dem Sapotoxin Glykose abgespalten, während eine reine Lösung des Glykosides selbst nach zehnstündiger Digestionszeit bei 38 ° C. sowie nach weiter zwölfstündigem Stehen bei Zimmertemperatur keine Reduktion bewirkt.

b) Hasenleber bewirkt eine energische Abspaltung, während

c) Hundeleber eine nur schwache Ausscheidung von Cuprooxyd bewirkte; ähnlich wirken nur schwach,

d) Pferdeleber und

e) Fischeleber, da nur an den Glaswandungen sich ein rötlicher Anflug bemerkbar machte.

II. Versuche mit Enzymen.

Von den Enzymen haben nur Emulsin und Tyrosinase eine kräftige Abspaltung von Glykose bewirkt, während die

III. Versuche mit Darmbakterien

ohne jeglichen Erfolg waren.

1) Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904. Vgl. auch Kobert, Intoxikationen, II. Aufl. 1902.

B. Alkaloide.

Beim Eingang meiner Arbeit bemerkte ich bereits, dass zum Isolieren der Alkaloide Isobutylalkohol angewandt wurde, welchem dann durch saures Wasser dieselben entzogen werden konnten, um mit dem gereinigten Alkaloid die betreffenden Reaktionen anzustellen. Die hierbei zu überwindenden Schwierigkeiten sind zu bekannt, um noch besonders darauf hinzuweisen, ebenso, wie schwankend die Angaben sind für die eintretende Farbe, wie auch die verschiedenartig angegebenen Farbentöne nur vom individuellen Standpunkt aufgefasst werden können: es wird wohl sehr vielen äusserst schwer werden, genau zu bestimmen, ob die eingetretene Farbe violett, blaviolett oder blau ist. Das gleiche tritt bei den Geruchsreaktionen ein; als Beispiel möchte ich nur die Vitali-Reaktion für Cocain anführen: Silva bezeichnet den Geruch pfeffermünzartig, Campbell Stark als zitronellartig — Gerüche von ganz bedeutendem Unterschied; von dritter Seite wird angegeben, dass ein Doppelgeruch nach Karbylamin und Benzoesäure auftritt!

Bei der Vitali-Reaktion tritt für Atropin, Morphin, Kodein, Dionin, Heroin und noch mehreren derselbe Geruch nach Karbylamin auf. Wenngleich nun in vorliegenden Versuchen immer nur ein einziges Alkaloid angewandt wurde, also die Reaktion auch nur für dasselbe gelten konnte, so lagen mir die bekannten Umsetzungsprodukte näher, und daher legte ich mehr Wert darauf, diese nachzuweisen und, wenn die eingeleiteten Reaktionen andere Resultate gaben als mit dem reinen Alkaloid, ich wohl annehmen konnte, dass eine Spaltung oder Umänderung infolge der Einwirkung der Fermente eingetreten war.

Atropin.

Über die Spaltbarkeit des Atropins im Tierkörper liegen noch keine Versuche vor, nur Bouchardt gibt an, dass dasselbe bei Vergiftungen sich im Harn unzersetzt wiederfindet; es ist allerdings hieraus nicht zu ersehen, ob der quantitative Nachweis geführt worden ist, da immerhin die Möglichkeit vorliegt, dass nur ein Teil des Alkaloides in den Harn überging.

Im Handwörterbuch d. Ch. findet sich bemerkt, dass bei der Elektrolyse in saurer Lösung am positiven Pol neben Sauerstoff und Kohlensäure ein Geruch nach Bittermandelöl auftritt; sind auch die elektrolytischen Einwirkungen ganz anderer Natur, unter Umständen

auch kräftiger, so wäre doch nicht ausgeschlossen, dass auch die verschiedenen Enzyme des Verdauungstraktus oder die Histozyeme eine Spaltung des Atropins bewirken könnten.' Durch Einwirkung von Säuren entstehen verschiedene neue Verbindungen: Tropin, Tropasäure, Atropasäure, Isatropin. Das Tropin ist in der Kälte geruchlos, beim Erwärmen eigentümlich (?) riechend und gibt beim Verdampfen der ätherischen Lösung ölige Tropfen; auch ihr Kalksalz zeigt beim Erhitzen den Geruch Benzaldehyd. Atropasäure ist isomer mit Zimmtsäure und riecht wie Benzoessäure. Hauptreaktion für mich blieb die Eigenschaft des Atropins, die Pupille zu erweitern; fanden sich nun in den Versuchsflüssigkeiten reaktionsfähige Stoffe, welche z. B. ganz verdünnte neutrale Eisenchloridlösung — ein Tropfen auf 25 ccm Wasser — beim schwachen Erwärmen dunkler färbten, beim Kochen klar blieben, während reine Atropinlösung diese Erscheinung nicht zeigt, so musste ich wohl annehmen, dass eine Zersetzung des Alkaloides vor sich gegangen ist — das eigentliche Produkt zu kennzeichnen, war des Versuchsmaterials viel zu wenig. Blieb dann auch die Pupillenreaktion aus, so war die eingetretene Veränderung untrüglich.

I. Versuche mit Leber.

a) Rindsleber. Eine Glykosespaltung war nicht eingetreten; ich zog daher das auf dem Wasserbad mit Gips eingedampfte Gemisch mehrmals mit Alkohol aus, dampfte die Auszüge zum Sirup ein, verdünnte mit Wasser und schüttelte mit Äther mehrmals aus. Beim Verdampfen des Äthers, welcher absolut farblos erschien, blieben ölige Tropfen zurück, welche unverkennbar aromatisch nach Benzaldehyd oder Benzoessäure rochen. Mit Wasser verührt, entstand eine trübe Flüssigkeit, eingedampft und mit Alkohol aufgenommen, eine klare Lösung, aus welcher sich im Exsikkator mikroskopisch feine prismatische Kristalle ausschieden, welche sehr oft in Kreuzform gruppiert waren. Da mir physiologische Versuche auszuführen nicht möglich war, ich auch eine positive Gewissheit haben wollte über das Wesen des erhaltenen Produktes, so legte ich dasselbe Herrn Prof. Kobert vor mit der Angabe, dass meines Erachtens nach das Atropin durch das Histozyem der Rindsleber gespalten, d. h. umgesetzt sein könnte, vielleicht in Tropasäure oder Atropasäure, worauf durch den eigentümlichen aromatischen Geruch zu schliessen war, mit der Bitte, die Pupillenreaktion auf Atropin vorzunehmen.

Das Resultat der Prüfung war, dass Hager's Reagenz in der Lösung einen geringen Niederschlag — jedenfalls Spuren von Eiweiss, Albumosen usw. — bewirkte, beim Einträufeln in das Auge einer Katze aber eine Pupillenerweiterung nicht eintrat. Aus dem angegebenen Verfahren glaube ich ableiten zu können, dass die erhaltenen Kristalle nur allein aus dem Atropin stammen konnten, das zugesetzte Thymol beim Eindampfen mit Gips zur Trockne vollständig verschwunden war und, wenn Atropin als solches noch vorhanden gewesen wäre, sich auch in der Restlösung finden müssen. Es kann also nur eine Umsetzung des Atropins durch das Histozytm der Rindsleber angenommen werden.

b) Hasenleber. Auch hier wurde ein aromatisch riechender Rückstand erhalten, welcher, wie bei Rindsleber angegeben, weiter behandelt auch die dort erzielten Kristalle ergab. Beim Auflösen in wenig Wasser und einige Tropfen in das Auge einer Katze gebracht, trat eine Pupillenerweiterung nicht ein; mit sehr verdünnter neutraler Eisenchloridlösung trat beim Aufkochen eine hellblutrote Färbung auf, ohne eine Ausscheidung zwar, allein es zeigte die Flüssigkeit einen opalen Schein, wenn das Licht auf dieselbe fiel; es scheint mir demnach, dass aus dem Atropin ein der Benzoesäure ähnlicher Körper entstanden ist.

c) Hundeleber. Vor dem Zusatz von Gips versetzte ich das Gemisch mit etwas Natriumbikarbonat; den getrockneten Rückstand zog ich mit Isobutylalkohol heiss aus, schüttelte die Lösung mit saurem Wasser aus und verdampfte; es resultierte eine Kristallmasse, welche in Wasser gelöst mit der verdünnten Eisenchloridlösung beim Erhitzen die gleiche hellblutrote Färbung zeigte wie bei den vorhergehenden Versuchen. Ein anderer Teil der Krystalle wurde in Wasser gelöst, mit einigen Tropfen Salzsäure versetzt, mit Äther ausgeschüttelt und dieses auf dem Uhrglas verdampft; der beim Erwärmen schwach aromatisch riechende Rückstand erweiterte die Pupille nicht.

d) Pferdeleber und

e) Fischleber geben dieselbe Eisenreaktion, so dass auch hier eine Umsetzung nachzuweisen ist.

II. Versuche mit Enzymen.

1. Tierische Enzyme.

a) Pepsin ist ohne Einwirkung.

b) Pankreatin. Die Reaktion soll in schwach alkalischer Lösung eintreten; das Filtrat wurde trotz dieser Reaktion durch

verdünnte Eisenlösung nicht getrübt, auch beim Aufkochen nicht, nahm jedoch die hellblutrote Färbung an, welche bei den bereits besprochenen Versuchen beobachtet wurde; es wirkt demnach auch Pankreatin umsetzend auf Atropin.

c) Trypsin. Aus dem sirupösen Rückstand schieden sich zarte, pinselförmig gruppierte Kristallnadeln aus, welche mit Eisenlösung die rote Färbung geben, in wässriger Lösung das Auge nicht beeinflussten. Schwefelsäure und Kaliumbichromat ohne Blumengeruch.

2. Pflanzliche Enzyme.

a) Emulsin ist ohne Einwirkung.

b) Maltin ist ohne Einwirkung, auch bei 70°.

c) Invertin. Aus dem ätherischen Auszug schieden sich büschelförmige Kristalle aus, welche mit konzentrierter Schwefelsäure und Kaliumbichromat Blumengeruch ausgaben; also unzersetztes Atropin.

d) Invertase ist ohne Einwirkung.

e) Tyrosinase. Der Rückstand beeinflusste Katzenauge nicht, gab jedoch die Eisenreaktion für Benzoesäure.

III. Darmbakterien.

a) *Bacterium coli commune* ist wirkungslos.

b) Darmentleerung, menschliche, bewirkt keine Umsetzung des Atropins.

c) Darminhalt und Darmbakterien von Kaninchen. Die Versuche des Darminhalts ergaben ein zweifelhaftes Resultat; *Bacillus subtilisimilis* war ohne Einwirkung, *Bacillus tetaniformis* bewirkte eine teilweise Veränderung, denn es konnte Atropin durch die Pupillenreaktion erkannt werden, anderseits trat aber auch die hellblutrote Eisenfärbung ein.

Auftretende Zweifel über das Verfahren oder über meine Schlussfolgerungen würde ich ganz berechtigt finden; allein da über ähnliche Versuche noch nichts bekannt ist, war ich auf eigene Anschauung angewiesen, welche wohl von berufener Seite für nicht ganz einwandfrei erklärt werden könnte.

Cocain.

Das Cocain ist ein sehr leicht zersetzbares Alkaloid, eine Eigenschaft, welche seine Darstellung, noch mehr die Haltbarkeit seiner Lösungen erschwert, denn es wird bereits durch die äusserst geringe Alkalität des Glases zersetzt, in welchem dasselbe aufbewahrt

wird. Ein absolut reines Präparat — Hydrochlorid in sehr schönen langen Nadeln roch ausgesprochen nach Benzoesäure, obgleich das Cocain erst durch konzentrierte Säuren unter Aufnahme von Wasser in Ecgonin, Benzoesäure und Methylalkohol zerfallen soll. Bekannt ist, dass ausser Strychnin (Langendorff), Morphin und Veratrin (Araki), Curare (Langendorff) auch Cocain (Araki) das Auftreten von Glykose im Harn bedingen; hiernach wäre es also möglich, dass der Zucker in manchen Fällen als Spaltungsprodukt der Alkaloide erscheint, abgesehen von der bekannten Tatsache, dass die Wirkung der genannten Alkaloide auf eine Lähmung der Respiration, also auf Sauerstoffmangel zurückzuführen ist. Die Glykose entsteht bei Funktionsstörungen in der Leber, und so könnte wohl auch das Leberhistozym aus dem Cocain Glykose abspalten, wie dieser Fall durch meine Versuche mit Amygdalin und Arbutin dargestellt ist; allein es ist mir nicht gelungen Glykose durch Histozyne aus Cocain abzuspalten.

Um die eventuelle Alkalität des Glases zu beseitigen, wurden sämtliche Versuchskölbchen und Reagenzgläser vor dem Gebrauch mit verdünnter Salzsäure ausgekocht und gründlich mit destilliertem Wasser nachgespült.

I. Versuche mit Leber.

a) Rindsleber. Vor dem Abpressen wurde dem Gemisch etwas Natriumbikarbonat zugefügt, um etwa gebildete Benzoesäure zu binden; der mit Gips eingetrocknete Rückstand wurde, um das Fett zu beseitigen, mit Äther öfter ausgezogen, welcher auch noch vorhandenes Cocain lösen würde; nach dem Verdampfen des Äthers zog ich das entfettete Gemisch mit Wasser aus, fügte Phosphorsäure zu, schüttelte mit Äther aus und liess denselben verdunsten. Unter dem Mikroskop erschienen die Formen der Benzoesäure, wie dann auch eine wässrige Lösung mit verdünnter Eisenchloridflüssigkeit erhitzt eine tief blutrote Färbung annahm. Da nun das Präparat also solches bereits mit Eisenchlorid eine schwach rötliche Farbe gab, als anzunehmen ist, dass dasselbe bereits nicht frei von Benzoesäure war, so scheint es mir doch zweifellos, dass durch das Leberhistozym mindestens eine Vermehrung der Säure bewirkt worden ist.

b) Hasenleber. Bei diesem Versuch wurde ein neues Präparat verwendet, welches schöne, grosse, durchsichtige — scheinbar rhombische Kristalle zeigte und den Geruch nach Benzoesäure nicht

besass; eine Lösung derselben mit verdünnter Eisenchloridlösung versetzt und erwärmt, nahm die rötliche Färbung nicht an, trübte sich schwach opalisierend, ohne auch nach langem Stehen etwas abzusetzen, aber durch Säure auch nicht klar zu werden. Das Resultat aus dem weiteren Verlauf des Versuches war das mikroskopische Bild der Benzoesäure: prismatische Nadeln und gestreckte Tafeln mit den charakteristisch abgesetzten Winkeln.

- | | |
|-----------------|--------------------------------------|
| c) Hundeleber, | } spalten aus Cocain Benzoesäure ab. |
| d) Pferdeleber, | |
| e) Fischleber, | |

II. Versuche mit Enzymen.

1. Tierische Enzyme.

a) Pepsin ist ohne Einwirkung.

b) Pankreatin: Das Filtrat wurde eingedampft, schwach mit Phosphorsäure angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt und dieser verdampft; der Rückstand zeigte unter dem Mikroskop die prismatischen Nadeln der Benzoesäure, wie auch eine Lösung derselben mit verdünnter Eisenchloridlösung beim Erhitzen eine hellbraunrote Färbung annahm. Der Filtrerrückstand wurde gleichfalls mit etwas saurem Wasser ausgezogen, die klare Lösung durch Ammoniak schwach alkalisch gemacht, mit Äther ausgeschüttelt und verdampft; auch hier war das Vorhandensein von Benzoesäure festgestellt.

c) Trypsin wirkt gleichfalls spaltend auf Cocain, wie die erhaltenen Benzoesäurekristalle bewiesen.

2. Pflanzliche Enzyme.

a) Emulsin wirkt spaltend auf Cocain; unter dem Mikroskop erschienen zumeist die prismatischen Nadeln der Benzoesäure sowie vereinzelt noch die rhombischen des Cocains.

b) Maltin ist wirkungslos.

c) Invertin: die Versuchsflüssigkeit wurde eingedampft, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen; die Eisenreaktion blieb aus. Der alkoholische Auszug auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit schwach alkalischem Wasser aufgenommen, die Lösung mit Phosphorsäure versetzt und mit Äther ausgeschüttelt: keine Benzoesäure, also wirkt Invertin nicht spaltend.

d) Invertase ohne Wirkung.

e) Tyrosinase spaltet Benzoesäure ab, welche an den charakteristischen Tafeln und prismatischen Nadeln erkannt wurde.

III. Darmbakterien.

a) *Bakterium coli commune* ist ohne Wirkung.

b) Darmentleerung, menschliche; das anfangs trübe Gemisch klärte sich während der Versuchsdauer, wie auch die alkalische Reaktion verschwand, wie sich dies deutlich bei Zusatz von Eisenchloridlösung zeigte, indem die Flüssigkeit klar blieb; beim Kochen nahm sie eine dunkle Färbung an.

Der Verdampfungsrückstand mit Ätheralkohol aufgenommen, zeigte nach dessen Verdunsten die ausgezeichneten Benzoesäurekristalle.

c) Darminhalt und Darmbakterien von Kaninchen. Der Darminhalt als solcher spaltet aus Cocain Benzoesäure ab; die Einwirkung der beiden Bazillen subtilisimilis und tetaniformis gleichfalls.

Nach allen diesen Versuchen ist es auffallend, dass die meisten Fermente, mit Ausnahme von Invertin, Invertase, Maltin, sowie Pepsin in saurer Lösung aus dem Cocain Benzoesäure abspalten, welche zumeist als solche in mikroskopischen Kristallen erhalten und dadurch erkannt wurde. Wie ich bereits eingangs der Versuche mit Cocain hervorhob, soll dasselbe bereits durch die Alkalität des Glases, anderseits erst durch starke Säuren zerlegt, d. h. Benzoesäure dabei gebildet werden, und habe ich daher die Versuchsgläser vorher mit verdünnter Säure ausgekocht.

Trotzdem traten mir Bedenken auf, besonders bei denjenigen Versuchen, welche einen geringen Zusatz an Soda bedurften — ob nicht wohl gerade dieser für sich schon eine Zersetzung des Cocains bedingen dürfte, und diese Befürchtung wurde dadurch bestätigt, dass eine Cocainlösung mit 0,1 % Soda bereits nach sieben Stunden die Eisenreaktion zeigte und nach 36 Stunden Einwirkung auch Benzoesäure isolieren liess. Die unter dem Mikroskop erkennbaren Kristalle der Säure waren jedoch in der Minderheit: ausser den Tafeln und prismatischen Nadeln derselben fanden sich zumeist feine, lange Nadeln ganz anderer Art, wie solche das zuerst verwandte Cocain zeigten; es wird also durch die Einwirkung von Soda nur ein geringer Teil des Cocains zerlegt, so dass bei Abwesenheit desselben auf eine vollständige Umsetzung durch Fermente unzweifelhaft erkannt werden muss.

Morphin.

Über den Verbleib des Morphin im Organismus ist eine reiche Literatur vorhanden; Erdmann fand 0,3 % im Magen und Darm

von Kaninchen, im Blut und Harn nur Spuren wieder und glaubt daher an eine Zersetzung im Organismus. Kunzmann nimmt an, dass es nur die Nieren unzersetzt passiert. Vogt und Jaques fanden im Harn kein Morphinum wieder, dagegen in den Fäces; Eliasson erkannte, dass das Alkaloid eine Umänderung im Organismus erleidet, erkannt durch Fröhde's Reagens. Marmé ist es gelungen, überall Morphinum wieder zu finden, wenn normale Nieren vorhanden sind, und dass Leber dasselbe in Oxydimorphin umwandelt. Landsberg gelang es nach der Methode von Wislicenus 50 % aus dem Harn eines Hundes wieder zu finden. Donath fand dagegen nirgends etwas wieder, gleich ihm auch Stark. Tauber konnte in Leber und Niere des Schweins, in den Fäkalien 41 % unzersetztes Morphinum wiedererhalten. Faust erklärt auf Grund der ihm bekannt gewordenen Versuche, dass bei fortgesetztem Einverleiben von Morphinum der Organismus immer mehr die Fähigkeit erlangt, dasselbe zu zerstören und dass hierauf die erworbene Immunität zurückzuführen sei, sowie auch er die Überzeugung ausspricht, dass es sich um eine wirkliche Zerstörung des Alkaloids handelt und nicht um eine Bildung von Derivaten. Orfila war der erste, welcher sich mit der bis heute noch als umständlich anerkannten Abscheidung aus den Organen und dem Nachweis desselben in forensischen Fällen befasste und führte die Reaktion mit Schwefelsäure und Eisenchlorid in die gerichtliche Analyse ein, und kam auf Grund von mehr als 3000 Versuchen zu dem Ergebnis, dass das Morphinum sich nur innerhalb einer bestimmten Zeit nach Vergiftungen im Blut wiederfindet, während es später nicht mehr nachzuweisen sei. In der Apothekerzeitung veröffentlicht Kobert eine kleine Abhandlung „Zum Nachweis des Morphins und seiner Derivate“ unter Bezugnahme auf das von Marquis zusammengestellte Reagenz.

In der Chemikerzeitung²⁾ hat M. Totze einige Versuche, ausgeführt im Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie, Rostock, unter der Leitung des Direktors Herrn Professor Kobert, „Über den Verbleib des Morphiums im tierischen Organismus“, ausführlich mitgeteilt. Ich kann nur auf die Arbeit hier verweisen und hervorheben, dass das Morphinum im Organismus zum Teil um-

1) Jahrgang 1899 Nr. 37.

2) Chemiker-Zeitung 1903.

gewandelt, teils zerstört wird, aber auch denselben unzerstört passiert, wie aus seinen vielen Versuchen hervorgeht; Totze nimmt an, dass die betreffenden, nicht genau bekannten Organe die Fähigkeit, Morphin zu zerstören, im hohen Grad besitzen müssen. Aus den vielen Literaturangaben ist ersichtlich, dass sich dieselben zum Teil vollständig widersprechen, und es erscheint mir zweifellos, dass es nur die angewandten Methoden für Abscheidung des Alkaloides einerseits sein können, anderseits jedoch die seinerzeit herrschende Unkenntnis über die Veränderlichkeit desselben, welche jenen Angaben zugrunde liegen.

Marquis fand nach seiner Methode unverändertes, gepaartes und umgewandeltes Morphin und stellte letzteres künstlich aus einer Mischung von Leber, Glykogen und Morphin dar. Zum Nachweis des Alkaloides gelang es ihm, eine äusserst empfindliche Reaktion in der Formalinschwefelsäure zu finden, und aus seinen Versuchen geht hervor, dass nach einer Viertelstunde das intravenös eingeführte Morphin sich zu 30 % in der Leber vorfindet, nach 2 1/2 Stunden dagegen die Menge des unveränderten Alkaloides in der Leber abnimmt und das umgewandelte vorherrscht.

Totze benutzte zu seinen Versuchen Nieren, Magenschleimhaut, Dickdarmschleimhaut, und erst nebenbei kamen auch andere Organe zur Verwendung; er fand dann in der Leber 94,3 % des zugesetzten Morphins wieder. Bei dem Experimente mit einem lebenden Hund, welchem er 1,0 g Morphiumsulfat einspritzte und der nach sechs Stunden starb, fand er in der Leber nichts wieder, weder reines noch gepaartes Morphin; bei einem Kaninchen sind in der Leber nur Spuren von reinem, aber nichts von gepaartem Morphin gefunden worden; dagegen ist es ihm gelungen, in der Leber von zwei Versuchstieren umgewandeltes Morphin zu finden, welches mit dem Reagens eine graugrüne Färbung gab.

Bei meinen Versuchen kam es eben darauf an, ob während 48 Stunden eine Spaltung der Glykoside oder Alkaloide eintrat, während er die seinigen mit Morphin nur bis 2 1/2 Stunden ausdehnte. Während dieser kurzen Zeit hat er allerdings gefunden, dass sich in der Leber nach 1/4 Stunde 33 % unverändertes, nur Spuren umgewandeltes, nach 1 Stunde 10 % unverändertes, sowie ein Teil umgewandeltes, nach 2 Stunden 1,6 % unverändertes sowie ein grosser Teil umgewandeltes, nach 2 1/2 Stunden 1,3 % unverändertes sowie ein sehr grosser Teil umgewandeltes Morphin fand, wenn dasselbe in das Venenblut ein-

gespritzt war; es schien also möglich, dass nach mehr als 2 $\frac{1}{2}$ Stunden das reine Morphin ganz geschwunden sein würde. Meine Versuche mit ausgeschnittenen, entbluteten Organen konnten wohl zu etwas anderen Resultaten führen und sind, schon des geringen Versuchsgemisches wegen zumeist darauf gerichtet, ob sich unzersetztes Morphin nachweisen lässt oder nicht.

I. Versuche mit Leber.

a) Rindsleber. Die Abscheidung des Morphins aus der Leber ist als sehr umständlich bekannt. Es war mir nach den von Marquis angegebenen Versuchen gelungen, reines Morphin in der restierenden Lösung nachzuweisen, festgestellt durch die blaue Farbe der Formalinschwefelsäure, sowie an dem erhaltenen Niederschlag von Berlinerblau. Rindsleberhistozym wirkt also selbst nach 48 Stunden nicht auf Morphin ein.

b) Hasenleber. Der von Fett durch Ausziehen mit Äther befreite Digestionsrückstand wurde mit Wasser und etwas Soda aufgenommen, mit Gips wieder zur Trockne eingedampft, mit heissem Isobutylalkohol ausgezogen und mit heissem Wasser das Alkaloid aufgenommen. Der vorsichtig erhaltene Rückstand gab mit Formalinschwefelsäure, auf einem Uhrglas verrührt, stellenweise die blaue Morphinreaktion, allein da Fröhde-Reagens auch eine grüne Färbung bewirkte, so nehme ich an, dass auch ein Umänderungsprodukt des Morphins durch das Histozym der Hasenleber entstanden ist.

c) Hundeleber. Der durch Isobutylalkohol und saures Wasser und Verdampfen der Lösung erhaltene Rückstand gab auf dem Uhrglas mit Formalinschwefelsäure die blaue Färbung zunächst nicht, sondern eine hell mahagonibraune, später gesättigt grün (Oxydimorphin?); beim nochmaligen Auflösen unter Zusatz einiger Tropfen Ammoniak und 24 stündigem Stehen schieden sich zarte Kristalle aus, welche mit Marquis' Reagens die blaue Farbe des Morphins gaben, und es scheint, dass das Morphin zum Teil verändert worden ist.

d) Pferdeleber verhielt sich wie Rindsleber, also negativ.

e) Fischleber scheint absolut unwirksam zu sein, da bereits die Digestionsflüssigkeit nach Beseitigung des Fettes über Marquis' Reagens geschichtet nach kurzem Stehen einen deutlichen blauen

Ring, beim Durchmischen eine deutliche Blaufärbung ergab. Der Restrückstand wurde durch Formalinschwefelsäure intensiv blau gefärbt.

II. Versuche mit Enzymen.

1. Tierische Enzyme.

a) Pepsin ist absolut unwirksam, da die Reaktion mit Formalinschwefelsäure ganz intensiv eintrat.

b) Pankreatin übt keinen zerstörenden Einfluss aus und

c) Trypsin gleichfalls nicht.

2. Pflanzliche Enzyme.

a) Emulsin ist wirkungslos.

b) Maltin

c) Invertin

d) Invertase

} gleichfalls ohne Einfluss.

e) Tyrosinase. Die blaue Farbe des Marquis blieb aus, es trat nur eine mahagonibraune Färbung ein, wie ich solche mit Oxydimorphin bemerkt habe; ich möchte daher eine Umsetzung des Morphins durch Tyrosinase annehmen.

III. Darmbakterien.

a) *Bacterium coli commune* ist ohne Einfluss.

b) Darmentleerungen, menschliche; die Formalinschwefelsäurereaktion trat äusserst scharf auf; ein Umsetzungsprodukt konnte ich mit Fröhde-Reagens nicht nachweisen.

c) Darminhalt und Darmbakterien von Kaninchen.

Der Versuch mit dem Inhalt des Dünndarmes ergaben eine Umsetzung des Morphins. Zur Verwendung gelangte bei den Morphinversuchen ein aus dem Institut für Pharmakologie stammendes, Morphiunglukosid bezeichnetes Präparat; der grösste Teil desselben war gelöst, und nur wenige Kristalle schwammen in der Flüssigkeit. Der schliesslich erhaltene Verdampfungsrückstand gab mit Marquis' Reagens einen missfarbigen Ton. *Bacillus subtilis* bewirkte eine mahagonibraune Färbung — scheinbar Oxydimorphin; im Filterrückstand war, wie auch oben bei dem Darminhaltversuch, noch unzersetzt Morphin nachzuweisen. Auch der *Bacillus tetaniformis* bewirkte nur eine teilweise Umsetzung des Morphins.

Oxydimorphin.

Die Versuche wurden erst im Laufe der vorliegenden Arbeit ausgeführt; es erschien im voraus zweifelhaft, dass eine weitere

Umänderung des Oxydimorphins eintreten würde, und hat sich auch diese Voraussetzung bestätigt. Zunächst prüfte ich die verschiedenen Reaktionen, welche das Oxydimorphin als solches gibt, und fand, dass Formalinschwefelsäure eine mahagonibraune Färbung bewirkt.

Reine, starke Salpetersäure gibt eine blutrote Lösung, dann chromrot werdend; ein Zusatz von Eisenchloridlösung ändert die Farbe nicht.

Reine konzentrierte Schwefelsäure ballt zunächst das Präparat zusammen, gibt beim Verreiben mit der Zeit eine schmutzig-grüne Lösung; auf Zusatz von einem Kristall Kaliumbichromat gehen von diesem blutrote Streifen aus.

Offizinelle Phosphorsäure löst in der Wärme; beim Verdampfen und folgenden Abkühlen bleibt ein weisser Kristallbrei.

Eisenchlorid — ein Tropfen auf 30 ccm Wasser — gibt eine rotviolette Färbung, ähnlich neutraler Lackmüstinktur, während das Morphinumglukosid nicht gefärbt wird.

Diese Reaktionen führte ich mit dem gereinigten Rückstand aus und fand, dass in sämtlichen Versuchen eine weitere Umsetzung, andererseits auch eine Rückbildung des Oxydimorphins nicht nachzuweisen war.

Über die Spaltung der wirksamen Bestandteile des Rhizoma Filicis maris durch animalische Enzyme werde ich später berichten.

Spaltung durch:	Sini-grin	Ar-butin	Amygdalin	Sapo-toxin	Atropin	Cocain	Morphin	Oxydimorph.
Rind: Leber. . . .	—	+	+	+	+	+	—	—
Hase: Leber. . . .	—	+	+	+	+	+	z. Tl.	—
Hund: Leber. . . .	—	+	—	schwach	+	+	z. Tl.	—
Pferd: Leber. . . .	—	+	—	schwach	+	+	—	—
Fisch: Leber. . . .	—	gering	—	schwach	+	+	—	—
Pepsin	—	—	—	—	—	—	—	—
Pankreatin.	—	—	—	—	+	+	—	—
Trypsin	—	—	+	—	+	+	—	—
Emulsin	—	+	+	+	—	—	—	—
Maltin	—	—	—	—	—	—	—	—
Invertin. Invertase.	—	—	—	—	—	—	—	—
Tyrosinase.	—	+	+	+	+	+	+	—
Darminhalt (menschl.)	—	—	—	—	—	+	—	—
Darminh. (Kaninchen)	—	+	+	—	?	+	z. Tl.	—
Bacillus subtilisimil.	—	+	schwach	—	—	+	z. Tl.	—
Bacillus tetaniform..	—	+	+	—	z. Tl.	+	z. Tl.	—
Bact. coli comm. . .	—	—	—	—	—	—	—	—