

II.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.

Über die Verteilung des Coffeins im Körper und sein Verhalten bei der Angewöhnung.

Von

Johannes Bock und R. Bech Larsen.

Von mehreren Forschern (Rost¹⁾, Salant und Rieger²⁾ u. a. m.) ist nachgewiesen worden, daß nach Eingabe von Coffein dieser Stoff sich nur ganz wenige Tage im Harn nachweisen läßt. Über die Menge von Coffein, die sich zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Eingabe im Organismus findet, sowie über die Fragen, ob das Coffein bei fortgesetzter Eingabe im Organismus magaziniert wird, und wie es sich auf die verschiedenen Organe verteilt, sind nur von Gourewitsch³⁾ Untersuchungen veröffentlicht worden.

Zur quantitativen Bestimmung von Coffein in Organen extrahierte Gourewitsch diese zu wiederholten Malen mit 0,9 % iger NaCl-Lösung; danach wurden die ausgespülten Massen nach Ansäuern mit Essigsäure aufgekocht. Das Filtrat wurde mit Bleiessig und NH_3 gefällt, das Filtrat aus der Bleifällung mit H_2S behandelt, und nach Eindampfung des Filtrates aus der Schwefelwasserstofffällung wurde ein Gemisch von Chloroform, Äther und Alkohol, solange ein Niederschlag entsteht, zugesetzt. Die Flüssigkeit wird zu einem Sirup eingedampft und nach Zusatz einer Spur von NH_3 in 10 ccm Wasser gelöst. Die Lösung wird mit Chloroform geschüttelt, der Chloroformrückstand mit Petroläther extrahiert und in einem Gemisch von Chloroform und Benzol gelöst, das man in einem Wagentgläschen verdunsten

1) E. Rost, Dieses Archiv Bd. 36, S. 62, 1895.

2) W. Salant and J. Rieger, U. S. Department of Agric. Bureau of Chemistry, Bull. Nr. 157, 1912.

3) D. Gourewitsch, Dieses Archiv Bd. 57, S. 214, 1907.

läßt, wonach der Rückstand gewogen wird. Nach Zusatz von 200 mg Coffein zu 100 g Blut wurden 197 mg wiedergefunden; nach Zusatz von 100 mg Coffein zu etwa 10 g von verschiedenen Organen, die mit 0,9 % iger NaCl-Lösung zermahlen worden waren, wurden nach 4stündiger Sauerstoffdurchleitung bei 40° in 6 Versuchen 104—94 mg Coffein wiedergefunden.

Gourewitsch injizierte 2 Tauben 10 cg Coffein; die Tiere starben nach 5 und 4 Stunden; es wurden 97 und 104 mg Coffein wiedergefunden. Einer Ratte wurden abends 15 cg Coffein injiziert; das Tier starb in der Nacht, und es wurden bei der Analyse 141 mg Coffein wiedergefunden. Gourewitsch meint hiernach gezeigt zu haben, daß normale Tauben und — wie es scheint — auch normale Ratten nicht imstande sind, Coffein zu zersetzen.

Gourewitsch hat sodann versucht, Tiere durch steigende Coffeingaben zu immunisieren. Zwei Tauben erhielten bzw. 77 und 82 Tage hindurch zunehmende Coffeingaben, zuletzt 67,5 mg Coffein täglich. Die eine Taube wurde 2 Tage nach der letzten Injektion getötet; es wurden 204 mg Coffein wiedergefunden. Der anderen Taube wurden 2 Tage nach der letzten Injektion noch 100 mg Coffein injiziert. Das Tier starb in der Nacht; es wurden 243 mg Coffein wiedergefunden. Zwei Ratten wurden 73 und 74 Tage hindurch mit zunehmenden Coffeingaben behandelt und erhielten schließlich 67,5 mg Coffein täglich; die eine Ratte wurde 2 Tage nach der letzten Injektion getötet; es wurden 9 mg Coffein wiedergefunden. Der anderen Ratte wurden 2 Tage nach der letzten Injektion 150 mg Coffein injiziert. Das Tier starb in der Nacht. Es wurden 171 mg Coffein wiedergefunden. Gourewitsch meint danach, daß bei der Angewöhnung der Tauben trotz einer erworbenen Immunität eine Steigerung der Zersetzungsfähigkeit für Coffein nicht stattfindet, daß dies wohl aber bei Ratten der Fall ist.

Gourewitsch benutzte bei fast allen Versuchen Coffeinum-Natrium salicylicum, ein Präparat, das in den verschiedenen Pharmakopöen einen etwas verschiedenen Coffeingehalt hat; so fordert Ph. Germ. 43,8 % Coffein, Ph. Helvet. 44—46 % Coffein. Wir haben für Gourewitschs Versuche das Coffeinum-Natrium salicylicum in Coffein umgerechnet und hierbei mit einem Gehalt von 45 % Coffein gerechnet.

Gourewitsch fand, daß zwei Kaninchen nach bzw. 22,2 und 19,8 cg Coffein pro Kilogramm starben, daß aber drei Kaninchen eine Injektion von bzw. 8,8, 10,4 und 11,7 cg Coffein pro Kilogramm überlebten. Nach einer täglichen Injektion von 10,4 und 15,1 cg

Coffein pro Kilogramm starben zwei Kaninchen nach bzw. drei und zwei Injektionen. Nach diesen vorbereitenden Versuchen injizierte Gourewitsch vier Kaninchen von einem Gewicht von 2500—3200 g im Laufe von $2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ Monaten täglich Coffeinum-Natrium salicylicum in 10%iger Lösung, indem er mit einer 4,5 cg Coffein täglich entsprechenden Gabe begann, die er allmählich auf 40,5 cg Coffein steigerte, und diese Gabe wurde die letzten 2—3 Wochen hindurch täglich injiziert. Die Schlußgabe pro die betrug bei den vier Kaninchen 14,5, 16,2, 14,2 und 12,7 cg pro Kilogramm. Die Tiere wurden im ersten bis dritten Versuch 2 Tage, im vierten Versuch 4 Tage nach der letzten Injektion getötet, und der Coffeingehalt der verschiedenen Organe wurde bestimmt. Wir haben in der folgenden Tabelle nach Gourewitschs Angaben den bei seinen Versuchstieren vorgefundenen prozentualen Coffeingehalt der Organe berechnet.

Gourewitschs Immunisierungsversuche.

Prozentgehalt von Coffein in den Organen.

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
Leber . .	0,40	0,164 ¹⁾	0,160	1,20
Nieren . .	—	—	0,322	0,38
Muskeln .	0,55	0,28	0,925	0,71
Hirn. . .	—	—	2,59	2,38

Die Bestimmungen wurden zum größten Teil an 10—20 g von den Organen ausgeführt; in Versuch 2 und 3 wurde die Leber in toto analysiert. In einer Reihe von Fällen wurden außerdem 10 cg Coffein zu 10 g des Organes gesetzt, es wurde 4 Stunden lang Sauerstoff durchgeleitet, und die Coffeinmenge wurde bestimmt. Da die Resultate dieser Bestimmungen nicht alle ganz mit dem Obenstehenden übereinstimmen und Gourewitsch es nicht als entschieden betrachtet, ob bei der Durchleitung mit Sauerstoff eine Zerstörung von Coffein stattgefunden hat, haben wir diese Bestimmungen unberücksichtigt gelassen.

Gourewitschs Angaben wurden bisher noch nicht nachgeprüft und sind unseres Wissens nur von Salant und Rieger²⁾ besprochen

1) Die Leber wurde in toto analysiert. Da ihr Gewicht nicht angegeben ist, haben wir nach Versuch 3, wo die Leber 101 g und das Kaninchen 2850 g wogen, in Versuch 2 (Kaninchen 2500 g) das Gewicht der Leber zu 89 g angesetzt.

2) W. Salant and J. Rieger, U. S. Department of Agric. Bureau of Chemistry, Bull. Nr. 148, S. 74, 1912.

worden. Diese Forscher fanden als letale Coffeingabe für Kaninchen bedeutend höhere Werte als Gourewitsch. Es zeigten sich aber bei verschiedenen Tieren bedeutende Schwankungen. Salant und Rieger fanden, indem sie eine chronische Coffeinv Vergiftung hervorzurufen versuchten, daß eine nicht tötende Gabe, welche täglich oder mit kurzen Zwischenräumen verabreicht wird, keine Symptome von akuter Coffeinv Vergiftung hervorruft, und folgern daraus, daß das Coffein keine kumulative Wirkung besitzt. Bei täglicher Injektion von großen Coffeingaben, die vereinzelt nicht letal waren, trat der Tod nach wenigen Tagen ein. Die beiden Forscher meinen, daß eine beschränkte Toleranz erworben werden kann, wenn man zwischen den Injektionen hinlänglich viel Zeit, 4—12 Tage, verstreichen läßt. Sie schließen aus ihren Untersuchungen, daß bei kleineren Gaben die Ausscheidung von Coffein und dessen Dekompositionsprodukten im Laufe von 24 Stunden stattfindet, bei größeren Gaben aber etwas längere Zeit beansprucht. Spätere Untersuchungen von Salant und Rieger¹⁾ an Kaninchen haben doch gezeigt, daß nach 10—15 cg pro Kilogramm der Harn meist nach 24 Stunden coffeinfrei ist oder nur Spuren von Coffein enthält. Von Gourewitschs Untersuchungen sagen sie nur, daß die Resultate derselben wegen der von ihm zur Identifizierung des Coffeins benutzten Methode und der geringen Anzahl seiner Versuche nicht entscheidend sind; sie haben aber selbst keine Untersuchungen über den Coffeingehalt der Organe nach lange Zeit hindurch fortgesetzter Coffeineingabe angestellt. Gourewitsch hat also bei seinen Immunitätsversuchen sogar 2—4 Tage nach der Sistierung der Coffeinzufuhr eine sehr große Anhäufung von Coffein, besonders im Hirn und in den Muskeln, gefunden, und meint hiernach, es bleibe nichts anderes übrig als an eine aktiv erworbene Zellimmunität zu denken, wobei die Hauptmasse des Giftes sich in den Organen findet, die pharmakodynamisch am meisten auf die Wirkung derselben reagieren. Eine Berechnung der im Organismus angehäuften Coffeinmenge wurde nicht vorgenommen. Wir haben versucht, eine solche Berechnung für die Versuche 3 und 4 auszuführen. Bei der Präparation eines normalen Kaninchens fanden wir, daß die gesamte quergestreifte Muskulatur 42 % des Körpergewichtes ausmachte. Wir legen diese Bestimmung der Berechnung zugrunde und nehmen an, daß das Coffein gleichmäßig über die gesamte quergestreifte Muskulatur verteilt war. In Versuch 3 würde danach

1) W. Salant and J. Rieger, U. S. Department of Agric. Bureau of Chemistry, Bull. Nr. 157. 1912.

das Gewicht der Muskulatur 42 % des Körpergewichts (2850 g), also 1197 g betragen und bei einem Coffeingehalt von 0,925 % 11,07 g Coffein enthalten. Werden hierzu die in Leber, Nieren und Hirn gefundenen Coffeinemengen addiert, so ergibt sich, daß das Tier 2 Tage nach der letzten Coffeininjektion in Muskulatur, Leber, Hirn und Nieren 11,52 g Coffein enthalten sollte. Für Versuch 4 ergibt eine ähnliche Berechnung, bei der das Gewicht der Leber nach Versuch 3 zu 113,4 g angesetzt wurde (s. Anmerkung S. 17), daß die betreffenden Organe 4 Tage nach der letzten Injektion 11,189 g Coffein enthalten sollten. Diese Werte sind als minimale Werte zu betrachten, denn das in Verdauungskanal, Milz, Lungen, Blut usw. etwa vorhandene Coffein ist nicht berücksichtigt worden. In Versuch 3 erhielt das Tier täglich die letzten 2 Wochen hindurch 0,405 g Coffein, also in diesem Zeitraum 5,67 g, und in Versuch 4 wurde die letzten 3 Wochen hindurch dieselbe Tagesgabe injiziert; das Tier erhielt also in diesem Zeitraum 8,505 g Coffein. In Versuch 3 und 4 wurde also in Leber, Muskulatur, Nieren und Hirn eine Coffeinmenge angehäuft, die ungefähr der im letzten Monat injizierten Coffeinmenge entspricht: es müßte hier also eine enorme Anhäufung stattgefunden haben.

Das Resultat von Gourewitschs Versuchen ist so überraschend und von so weitgreifender Bedeutung, sowohl in theoretischer als in praktischer Beziehung, daß wir es angezeigt fanden, die Frage von der Verteilung und dem Geschick des Coffeins im Organismus, sowohl nach vereinzelter als nach langer Zeit hindurch fortgesetzter Eingabe, einer Untersuchung zu unterziehen.

Zur Bestimmung des Coffeingehaltes im Harn wandten Salant und Rieger¹⁾ folgende Methode an: Nach Klärung des Harns mit basischem Bleiazetat wurde das Coffein mit Chloroform extrahiert und durch die Bildung des Perjodides gereinigt. Dieses wurde mit schwefeliger Säure zersetzt und das Coffein mit Chloroform extrahiert und gewogen. Als Identifizierung wurde die vollständige Sublimation des gefundenen Produktes sowie in mehreren Fällen der Schmelzpunkt benutzt. Salant und Rieger haben in einigen Fällen dieselbe Methode zur Coffeinbestimmung im Inhalt des Verdauungskanals und der Galle benutzt. Diese Methode, die teilweise mit dem Verfahren übereinstimmt, das wir zur Reinigung des aus Organen extrahierten Coffeins anwandten, führt nach unseren Untersuchungen beim Harn zu guten Resultaten, aber das Ausschütteln des Harns mit Chloroform ist recht beschwerlich.

1) a. a. O. Bull. Nr. 157, S. 8.

Ehe wir zur Beschreibung der von uns angewandten Methode übergehen, erwähnen wir noch einige Untersuchungen über die Genauigkeit einiger der von uns bei der Isolierung des Coffeins benutzten Prozeduren.

Betreffs der Ausfällung des Coffeins durch J-JK-Lösung zeigte es sich, daß ein gewisser Überschuß von Jod in der Fällungsflüssigkeit notwendig ist, damit die Fällung eine vollständige werde. So wurden in einer Coffeinelösung 1:500 und bei einem Flüssigkeitsvolum von 50 ccm bei einer Konzentration von $n/100$ J in der Flüssigkeit etwa 3%, bei einer Konzentration von $n/250$ J etwa 7% des vorhandenen Coffeins nicht gefällt. Bei einer Konzentration von $n/20$ — $n/10$ J in der Flüssigkeit war die Fällung des Coffeins als Perjodid quantitativ.

Ferner zeigte es sich, daß das Coffein durch Kochen mit $2n$ H_2SO_4 nicht zersetzt wird, was aus folgenden Kontrollversuchen hervorgeht.

1. 0,2044 g Coffein wurde in $2n$ H_2SO_4 gelöst und 3 Stunden mit Rückflußkühler gekocht. Danach wurde die Flüssigkeit mit Chloroform ausgeschüttelt und das Chloroform abdestilliert. Im Rückstand wurde durch Stickstoffbestimmung 0,2042 g Coffein wiedergefunden.

2. 0,2023 g Coffein wurden in 20 ccm $2n$ H_2SO_4 gelöst und 3 Stunden mit Rückflußkühler gekocht, die abgekühlte Flüssigkeit mit 35 ccm $n/5$ Jodlösung gefällt, der Niederschlag mit Jodlösung gewaschen und in Natriumbisulfatlösung gelöst. Die Lösung wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und das Chloroform abdestilliert. Im Rückstande wurde durch Stickstoffbestimmung 0,2017 g Coffein wiedergefunden.

Das Coffein läßt sich in trockenem Zustande eine Stunde hindurch bei 100° ohne Gewichtsverlust erwärmen. Dagegen können bei lange dauerndem Abdampfen einer wässerigen Coffeinelösung auf dem Wasserbad nicht unbedeutende Coffeinemengen verschwinden

Beispiel: 0,0393 g Coffein, in Wasser gelöst, stand 48 Stunden in einer Platinschale auf dem kochenden Wasserbad, indem das verdampfte Wasser fortwährend ersetzt wurde. Es wurde 0,0344 g Coffein wiedergefunden, was also einen Verlust von 0,049 g, d. h. 12,5 % ergibt.

Zur quantitativen Isolierung des Coffeins aus den Organen versuchten wir verschiedene Verfahren. Erst wurden die Organe in einem warmen Luftstrom getrocknet und darauf in Soxhlets Apparat mit Chloroform extrahiert. Das Chloroform wurde abgedampft, der Rückstand in Wasser gelöst, mit basischem Bleiazetat oder durch Bildung des Perjodids gereinigt und das Coffein mit Chloroform extrahiert. In fast allen später angeführten Versuchen wurden die nicht getrockneten Organe nach der unten zu beschreibenden Methode mit Alkohol extrahiert.

In den nach durchgeführter Reinigung vorliegenden Produkten wurde stets der Stickstoffgehalt bestimmt. Es zeigte sich, daß der Stickstoffgehalt der gefundenen Produkte beinahe nie dem des Coffeins genau entsprach, sondern etwas niedriger war. Bei der schließlich verwendeten Methode (s. unten) waren die Abweichungen nur gering, aber variierend; bei den zuerst angewandten, weniger vollständigen Reinigungsmethoden konnte es sich dagegen um nicht unbedeutende Differenzen handeln. Der Grund davon ist ohne Zweifel, daß bei der Reinigung des Coffeins geringe Mengen von anderen Stoffen, und zwar sicherlich zum größten Teil Phosphatide, mitfolgen können. Im Gegensatz zum Coffein, das 28,85% N enthält, haben die Phosphatide immer einen sehr niedrigen Stickstoffgehalt. So enthält das eigentliche Lecithin nur 1,8% N. Da der bei den Analysen gefundene Stickstoffgehalt der isolierten Produkte sich nur wenig von dem Stickstoffgehalt des reinen Coffeins entfernte und anzunehmen ist, daß die Unreinheiten nur einen verhältnismäßig geringen Stickstoffgehalt haben, wird man ein sehr genaues Resultat erhalten, wenn man die Stickstoffmenge des gefundenen Produktes bestimmt und daraus die Coffeinmenge berechnet, indem die Unreinheiten als stickstofffrei betrachtet werden. Die Differenz zwischen dem Gewicht des gefundenen Produktes und der durch die Stickstoffanalyse bestimmten Coffeinmenge ist danach als Unreinheit zu betrachten. Die Unreinheiten betrugen in der Regel nur einen geringen Teil des gereinigten Produktes: bei einer Coffeinmenge von 5–10 mg im allgemeinen 5–10%, bei ganz kleinen Coffeinemengen war oft der Prozentgehalt an Unreinheiten verhältnismäßig größer. Bei größeren Coffeinemengen war der prozentische Gehalt an Unreinheiten sehr gering. Folgende Bestimmungen veranschaulichen die Menge von Unreinheiten bei verschiedenen Coffeinemengen.

Versuch 9.	Gewicht in g	Isoliertes Produkt in mg	Coffein nach N-Bestimmung in mg	Unrein- heiten in mg
Leber	50	8,2	7,2	1,0
Muskeln	325	40,8	40,7	0,1
Blut	36,7	4,7	4,5	0,2
Verdauungskanal	293	35,8	35,4	0,4
Versuch 2.				
Ratte — Verdauungskanal . .	175	11,7	11,1	0,6
Verdauungskanal	18	2,6	0,9	1,7
Versuch 3.				
Ratte — Verdauungskanal . .	205	9,5	8,2	1,3
Verdauungskanal	15	2,0	0,5	1,5

Bei allen im folgenden angeführten Versuchen, in welchen es gelang, aus Organen und Harn Coffein zu isolieren, wurde dieses als wohlcharakterisierte Krystalle vorgefunden.

Das zur Bestimmung des Coffeins benutzte Verfahren nahm schließlich folgende Form an. Bei größeren Tieren wurden von Muskeln 100—300 g, von der Leber 50—100 g benutzt, die mittels einer Fleischhackmaschine zerkleinert wurden. Das Hirn wurde in einem Mörser ausgerührt. Von den Ratten wurde meist das ganze Tier benutzt, das, nachdem das Fell abgezogen war, durch die Fleischhackmaschine passierte, während Fell, Pfoten und Schwanz mit der Schere in kleinere Stücke geschnitten wurden. Das Material wurde 2 Tage mit Alkohol mazeriert, dann wurde der Alkohol abfiltriert und das Material noch zweimal je 24 Stunden mit Alkohol extrahiert. Den gesamten Filtraten wurde der Alkohol abdestilliert, der Rückstand wurde zu wiederholten Malen mit $n/1$ H_2SO_4 ausgekocht und das Filtrat mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform wurde abdestilliert und der Rückstand in Wasser gelöst und mit basischem Bleiazetat gefällt. Der Bodensatz wurde abfiltriert, das Filtrat natronalkalisch gemacht und mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform wurde abdestilliert, der Rückstand gewogen, in $n/1$ H_2SO_4 gelöst, und es wurden so viele Kubikzentimeter $n/2$ J-JK-Lösung zugesetzt, daß die Flüssigkeit nach der Fällung eine einer $n/10$ Jodlösung entsprechende Jodmenge enthielt. Am folgenden Tage wurde der Niederschlag abfiltriert und mit $n/10$ J-JK-Lösung ausgewaschen. Das Perjodid wurde auf dem Filter mit einer Natriumbisulfidlösung zersetzt und der Filter mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde natronalkalisch gemacht und mit Chloroform ausgeschüttelt; das Chloroform wurde abgedampft, der Rückstand getrocknet und in Chloroform gelöst. Die Lösung wurde in einen gewogenen Kjeldahl-Kolben hinabfiltriert, das Chloroform abdestilliert und der Rückstand 1 Stunde bei 100° getrocknet und gewogen, worauf sein Stickstoffgehalt nach Kjeldahl-Gunning bestimmt wurde. Aus der gefundenen Stickstoffmenge wurde sodann die Coffeinmenge (28,85 % N) berechnet.

Die verschiedenen Teile der Analyse wurden mittels Analysen an einem Material durchgeprüft, zu dem verschiedene Mengen Coffein gesetzt worden waren. Schließlich wurden zur Feststellung der Genauigkeit der Methode, wenn ein ganzes, coffeinvergiftetes Tier in Arbeit genommen wird, folgender Versuch angestellt.

Versuch 1.

Ratte, Gewicht 206 g. Es wurden intraperitoneal 3,72 ccm einer Lösung von Coffeinum-Natrium benzoicum injiziert, und genau dieselbe Menge wurde in einem Kolben abgemessen und die Stickstoffmenge bestimmt. Es waren danach 63,8 mg Coffein injiziert. Die Ratte starb 15 Minuten nach der Injektion. Das Tier wurde in der oben beschriebenen Weise zerkleinert und die Coffeinmenge in zwei entnommenen Proben bestimmt.

Gewicht der Probe in g	Coffeinmenge berechnet in g	Coffeinmenge gefunden in g	Unrein- heiten in g
126,5	0,0392	0,0386	0,0010
42,5	0,0132	0,0122	0,0005

Der Tod trat so schnell ein, daß nennenswerte Mengen nicht im Organismus zerstört sein können. Die Übereinstimmung zwischen der berechneten und der gefundenen Coffeinmenge ist eine zufriedenstellende.

Nach dieser Methode wurden sämtliche im folgenden mitgeteilte Coffeinbestimmungen ausgeführt, mit Ausnahme von Versuch 8, bei dem die Organe in einem Luftstrom getrocknet und mit Chloroform extrahiert wurden, worauf dieses abdestilliert wurde. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst, mit basischem Bleiazetat gereinigt, und nach erneuter Ausschüttelung mit Chloroform wurde die Coffeinmenge durch eine Stickstoffanalyse bestimmt. Diese Methode gewährt sozusagen dieselbe Genauigkeit wie die oben beschriebene, aber die Menge von Unreinheiten ist meist etwas größer.

Bei der Coffeinbestimmung im Harn wurde folgendermaßen verfahren: Der Harn wurde mit basischem Bleiazetat gefällt, und es wurde bis zu einem bestimmten Volum angefüllt; eine größere abgemessene Menge des Filtrates wurde mit Natriumsulfat gefällt und das Filtrat in einem warmen Luftstrom fast bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit einer geringen Menge von warmem Wasser ausgerührt, der Bodensatz abfiltriert und ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit Chloroform ausgeschüttelt; dieses wurde abdestilliert, der Rückstand in Wasser gelöst, mit J-JK-Lösung gefällt und, wie bei den Organen angegeben, weiter behandelt. Bei folgenden Kontrolluntersuchungen wurde das Coffein in 200 ccm Harn gelöst.

Coffein zugesetzt in mg	Coffein wiedergefunden in mg	Coffein wiedergefunden in ‰	Unrein- heiten in mg
163,6	159,3	97,4	5,1
42,4	41,5	98,1	1,9
8,45	8,1	95,9	0,4

Es ist bei der Reinigung des Coffeins von den übrigen Methylxanthinen, die bei der Zersetzung des Coffeins im Organismus gebildet werden, von Bedeutung, daß die Ausschüttelung mit Chloroform sowohl bei saurer als bei alkalischer Reaktion stattfindet. Bei alkalischer Reaktion wird das Coffein mit Leichtigkeit vom Chloroform aufgenommen, wogegen Theobromin, Theophyllin und sicherlich auch Paraxanthin und die Monomethylxanthine als Stoffe ausgesprochen sauren Charakters¹⁾ bei alkalischer Reaktion nicht in Chloroform übergehen.

Rattenversuche.

Es wurde erst eine Reihe von Versuchen angestellt, um für Ratten die niedrigste tödliche Coffeingabe bei subkutaner Injektion zu bestimmen. Wir erhielten folgende Resultate:

Gewicht in g	Coffein pro Kilogramm in cg	
180	50	† nach 40 Minuten
159	40	† » 1 Stunde
180	30	† » 1 » und 50 Minuten
180	20	† » 5 Stunden » 30 »
171	20	† » 3 » » 20 »
162	16	† » 1 Stunde » 25 »
178	13	† » 9 Stunden » 16 »
215	12	überlebt, schwache Krämpfe
176	10	» » »

Hiernach kann man für Ratten bei subkutaner Injektion die kleinste letale Gabe von Coffein zu 13 cg pro Kilogramm ansetzen.

Es wurde sodann eine Reihe von Bestimmungen der Coffeinmenge in Ratten zu verschiedenen Zeitpunkten nach der subkutanen Injektion von Coffein ausgeführt.

Versuch 2.

Ratte, Gewicht 239 g. Injiziert 2,5 cg Coffein. Das Tier wurde nach 6 Stunden getötet. Es wurde gefunden:

im Verdauungskanal (18 g)	0,9 mg Coffein
im übrigen Teil des Tieres	14,0 » »
also im ganzen Tiere . .	14,9 » »

oder 59,6 % der injizierten Coffeinmenge.

1) J. K. Wood, Journ. of Chem. Soc. Bd. 83, S. 568 (1903) und Bd. 89, S. 1831 und 1839 (1906).

Versuch 3.

Ratte, Gewicht 268 g. Injiziert 2,94 cg Coffein. Das Tier wurde nach 12 Stunden getötet. Es wurde gefunden:

im Verdauungskanal (15 g)	0,5 mg Coffein	
im übrigen Teil des Tieres	10,1 »	»
also im ganzen Tiere	10,6 »	»

oder 36,2 % der injizierten Coffeinmenge.

Versuch 4.

Ratte, Gewicht 270 g. Injiziert 27 mg Coffein. Das Tier wurde nach 24 Stunden getötet. Die Analyse ergab kein Coffein.

Zur Untersuchung der Coffeinausscheidung im Harn und in den Fäzes wurden folgende Versuche angestellt.

Versuch 5.

Ratte, Gewicht 217 g. Injiziert täglich 21,7 mg Coffein an 4 aufeinander folgenden Tagen, im ganzen 86,8 mg. Das Tier starb etwa 10 Stunden nach der letzten Injektion. Im Tiere wurden gefunden 11,35 mg Coffein, d. h. 13,08 % der gesamten injizierten Coffeinmenge oder 52,16 % der 10 Stunden vor dem Tode injizierten Coffeinmenge.

Im Harn und in den Fäzes der ganzen Periode wurden 3,56 mg Coffein oder 4,1 % der im ganzen injizierten Menge wiedergefunden.

Versuch 6.

Ratte, Gewicht 199 g. Injiziert täglich an 4 aufeinander folgenden Tagen 19,9 mg, im ganzen 79,6 mg Coffein. Das Tier wurde 24 Stunden nach der letzten Injektion getötet. Im Tiere wurden 2,76 mg Coffein, d. h. etwa 14 % der 24 Stunden vor dem Tode injizierten Coffeinmenge wiedergefunden.

Im Harn und in den Fäzes der ganzen Periode wurden 2,65 mg Coffein oder 3,33 % der injizierten Menge wiedergefunden.

Versuch 7.

Ratte, Gewicht 196 g. Es wurden täglich an 4 aufeinander folgenden Tagen 8 cg Coffein pro Kilogramm, im ganzen 62,7 mg, injiziert. Das Tier wurde 48 Stunden nach der letzten Injektion getötet. Im Tiere konnte kein Coffein nachgewiesen werden. Im Harn und in den Fäzes der ganzen Periode wurden 2,0 mg Coffein oder 3,21 % der im ganzen injizierten Menge wiedergefunden.

Gourewitsch erklärt, daß nach seinen Befunden die normale Ratte das Coffein nicht in nennenswerter Menge zu zerstören scheint. Unsere Befunde haben dies nicht bestätigt. Wir fanden, daß an

Ratten injiziertes Coffein allmählich zerstört wird und nach 24 Stunden ganz oder beinahe ganz verschwunden ist. Nur 3—4 % der injizierten Coffeinmenge wurden im Harn und in den Fäzes wiedergefunden.

Kaninchenversuche.

Versuch 8.

Kaninchen, Gewicht 2870 g. Im Laufe von 1 $\frac{1}{2}$ Stunden wurden bei kontinuierlicher Injektion 84 cg Coffein intravenös eingespritzt, wonach das Tier starb. Die Analyse der Organe ergab folgende Resultate:

Muskel (76 g)	27,9 mg Coffein, d. h.	0,037 %
» (92 g)	34,4 » » »	0,037 »
Hirn (9 g)	3,4 » » »	0,038 »
Leber (50 g)	23,9 » » »	0,048 »

Versuch 9.

Kaninchen, Gewicht 3120 g. Im Laufe von 1 $\frac{1}{2}$ Stunden wurden 49 cg Coffein kontinuierlich intravenös injiziert. Das Tier wurde 6 Stunden nach Beendigung der Injektion getötet. Die Analyse ergab:

Muskel (325 g)	40,7 mg Coffein, d. h.	0,0125 %
Hirn (9,7 g)	1,1 ¹⁾ » » »	0,0113 »
Leber (50 g)	7,2 » » »	0,0143 »
Blut (36,7 g)	4,5 » » »	0,0122 »
Verdauungskanal (377 g)	45,6 » » »	0,0121 »

Diese Versuche zeigen, daß das Coffein sich fast gleichmäßig auf die verschiedenen Organe verteilt; in Muskeln, Hirn, Blut und Verdauungskanal mit Inhalt findet man ungefähr denselben prozentischen Coffeingehalt, nur in der Leber findet man verhältnismäßig größere Coffeinemengen, ganz in Übereinstimmung mit den Befunden bei vielen anderen Giften. In Versuch 8 wurden 29 cg, in Versuch 9 16 cg Coffein pro Kilogramm injiziert, aber während die Muskeln in Versuch 8, wo das Tier unmittelbar nach der Injektion starb, 0,037 % Coffein enthielten, so enthielten sie in Versuch 9, wo das Tier 6 Stunden nach Beendigung der Injektion getötet wurde, nur 0,0125 % Coffein, was darauf deutet, daß in den nach der Injektion verlaufenen Stunden bedeutende Mengen von Coffein im Organismus zerstört worden sind.

Gourewitsch fand bei Versuchen in vitro, daß Hirngewebe verhältnismäßig viel, Lebergewebe verhältnismäßig wenig Coffein bindet. Unsere obenstehenden Untersuchungen des Coffeingehaltes

1) Die Stickstoffbestimmung mißlang; die angeführte Zahl bezeichnet das Gewicht des gereinigten Coffeins.

der Organe coffeinvergifteter Tiere haben ein derartiges Verhältnis nicht gezeigt. Daß die Zersetzung des Coffeins im Organismus des Kaninchens sehr schnell vonstatten geht, wird durch folgenden Versuch bestätigt:

Versuch 10.

Kaninchen, Gewicht 3000 g. Es wurden subkutan 10 cg Coffein pro Kilogramm injiziert. Das Tier wurde nach 24 Stunden getötet. Es wurden untersucht: Muskeln (122 g), Leber (66 g) und Blut (62 g), aber in keiner dieser Proben konnte Coffein nachgewiesen werden.

In guter Übereinstimmung mit dem Obenstehenden fanden Salant und Rieger an Kaninchen, daß nach Coffeininjektion nur der Harn der ersten 24 Stunden beträchtliche Coffeinemengen enthielt. Später sezernierter Harn enthielt meist entweder kein Coffein oder nur Spuren davon.

Die angeführten Versuche zeigen also, daß das Coffein sowohl nach einer einzelnen, wie nach wenigen (3—4), von 24stündigen Zwischenräumen getrennten Injektionen nach 24—48 Stunden aus den Organen der Tiere verschwindet. Es wurden nun die Verhältnisse bei längerer Zeit hindurch fortgesetzter Coffeinzufuhr untersucht.

Versuch 11.

Hund mittlerer Größe. Erhielt 50 Tage hindurch 1,165 g Coffein täglich per os. Das Tier wurde am 24. VIII. 1914 48 Stunden nach der letzten Eingabe von Coffein durch Verblutung getötet. Der Harn der letzten 5 Tage war täglich im Käfig aufgesammelt worden. Es wurden untersucht: Muskeln (2 Proben à 61 g und 57 g) und Hirn (73 g); in den untersuchten Proben konnten nur minimale Spuren von Coffein nachgewiesen werden. Die Harnuntersuchung ergab folgende Resultate:

Harn vom 19. VIII. bis 22. VIII. enthielt:

0,0374 g Coffein pro die, d. h. 3,2 % der Tagesgabe;

Harn vom 22. VIII. bis 23. VIII. enthielt:

0,0260 g Coffein pro die, d. h. 2,2 % der Tagesgabe;

Harn vom 23. VIII. bis 24. VIII. enthielt:

0,0531 g Coffein pro die, d. h. 4,6 % der Tagesgabe.

Dieser Versuch deutet nicht darauf hin, daß bei längere Zeit hindurch fortgesetzter Coffeinzufuhr größere Mengen dieses Stoffes von den Tieren in ihren Organen magaziniert werden. Es wurden nun die Versuche von Gourewitsch wiederholt, indem 3 Kaninchen etwa 3 Monate lang täglich subkutan eine Lösung von Coffeinum-Natrium benzoicum injiziert wurde, die 5 % Coffein enthielt; es wurde mit einer kleinen Gabe angefangen und allmählich die Tagesgabe vergrößert.

Versuch 12.

Kaninchen, Gewicht 2740 g. Vom 12. IV. bis 14. IV. wurden täglich 10 cg Coffein injiziert, vom 14. IV. bis 16. IV. 15 cg Coffein, und die Gaben wurden nun langsam gesteigert bis zum 12. VI., wo 40 cg Coffein pro die injiziert wurden; es wurde nun bis zum 5. VII. mit dieser Gabe fortgefahren. Es waren im ganzen 23,9 g Coffein injiziert worden. Die Steigerung der Coffeingaben mußte mit großer Sorgfalt vonstatten gehen, wobei man sich vom Befinden und namentlich vom Gewichtsverhältnis des Tieres leiten ließ. Gegen Mitte des Versuches verlor das Tier recht bedeutend an Gewicht. So war das Gewicht am 26. V. nur 2280 g, aber gegen Ende des Versuches nahm das Gewicht zu und betrug bei Beendigung des Versuches 2530 g. Die Injektion geschah bei antiseptischen Kautelen; aber es entstanden doch einige Abszesse unter der Haut und einige kleine Ulzerationen an der Haut. Im übrigen bot das Tier nichts Abnormes dar. Am 7. VII., 48 Stunden nach der letzten Injektion, wurde das Tier durch Verblutung getötet. Es wurden untersucht: Muskeln (209 g), Leber (50 g), Nieren (12,5 g) und Hirn (8 g). In keinem der untersuchten Organe war Coffein nachzuweisen.

Versuch 13.

Kaninchen, Gewicht 3760 g. Am 12. IV. wurden 10 cg Coffein injiziert, und die Gaben wurden langsam bis zum 6. VI. vergrößert, wo 50 cg Coffein injiziert wurden. Diese Gabe wurde danach bis zum 26. VI. täglich injiziert. Während des ganzen Versuches waren 25,7 g Coffein injiziert worden. Das Gewicht des Tieres betrug zu Ende des Versuches 3580 g. Das Tier verhielt sich während des Versuches wie das Kaninchen von Versuch 12. Es wurde getötet am 28. VI., 48 Stunden nach der letzten Injektion. Es wurden untersucht: Muskeln (123,4 g), Leber (79,2 g), Nieren (17,4 g) und Hirn (9 g). In keinem von den untersuchten Organen ließ sich Coffein nachweisen.

Versuch 14.

Kaninchen, Gewicht 2560 g. Am 12. IV. wurden 10 cg Coffein injiziert, und die Gabe wurde nun langsam bis zum 6. VI. vergrößert, wo 45 cg Coffein injiziert wurden; diese Gabe wurde nun täglich bis zum 29. VI. injiziert. Das Tier wog nun 2690 g. Es verhielt sich im wesentlichen wie die vorhergehenden, war doch Anfang Juni, wo eben die maximale Gabe erreicht war, etwas kurzatmig und sehr unruhig, mit stark vermehrten Reflexen, weshalb die Tagesgabe 4 Tage hindurch auf Injektionen vormittags und nachmittags verteilt wurde. Die letzten 14 Tage des Versuches verhielt das Tier sich in normaler Weise. Am 30. VI. wurde das Tier 24 Stunden nach der letzten Injektion durch Verblutung getötet.

Von der Leber wurden 54,8 g untersucht. Es wurde 0,9 mg Coffein als charakteristische Krystallnadeln gefunden. Die Leber enthielt danach 0,0016 % Coffein. Ferner wurden untersucht: Muskeln (125,9 g), Nieren (15,4 g), Hirn (9,1 g). In keinem dieser Organe gelang es, Coffein nachzuweisen. Vom 22. VI. bis 24. VI. wurde der Harn in einem Zeitraum

von 48 Stunden mittels Katheter aufgesammelt. Es wurden im Harn 36,5 mg Coffein gefunden, also pro die 18,25 mg, d. h. 4,1 % der injizierten Tagesgabe.

In den Versuchen 12—14 erhielten die Kaninchen in der letzten Periode bzw. 15,8, 14,0 und 16,7 cg Coffein täglich pro Kilogramm vom Schlußgewicht der Tiere. Diese Gaben sind durchschnittlich größer als bei Gourewitschs vier Versuchen, bei denen in der entsprechenden Periode 12,7, 14,2, 14,5 und 16,2 cg pro Kilogramm injiziert wurden.

Die von uns verwendeten Tiere waren graue, belgische Kaninchen. Bei derartigen Tieren ist eine einzelne Injektion einer Coffeingabe derselben Größe wie bei Versuch 12—14, in den Schlußperioden als Tagesgabe gegeben, durchaus nicht tödlich. In dieser Beziehung stimmen unsere Beobachtungen ganz mit denen von Salant und Rieger überein. Dagegen wird die täglich wiederholte Injektion derartiger Gaben bei nicht gewöhnten Tieren meistens nach wenigen Tagen den Tod bewirken. Eine gewisse Immunität gegenüber Coffein läßt sich also an Kaninchen erreichen; dieselbe ist aber sehr beschränkt. Wir konnten es bei den immunisierten Tieren nicht dazu bringen, eine sicher letal wirkende Gabe täglich einzuspritzen, und wenn Gourewitsch behauptet, daß dies ihm gelungen sei, trifft dieses wenigstens nicht zu, wenn man die injizierten Gaben pro Kilogramm ausrechnet. So starben, wie oben genannt, in Gourewitschs Kontrollversuchen zwei Kaninchen nach einer einzelnen Gabe von 22,2 bzw. 19,8 cg Coffein, wogegen bei seinen Immunitätsversuchen zuletzt nur 12,7 bis 16,2 cg Coffein täglich eingespritzt wurden. Salant und Rieger erzielten eine beschränkte Toleranz, aber nur wenn sie Perioden von 2—8 Tagen zwischen den einzelnen Injektionen verstreichen ließen, um Zeit zu lassen »for repair of the injury done by the drug and to develop a mechanism for its better decomposition and elimination«, aber diese Betrachtung stützt sich nicht auf Versuche. Die bei unseren Versuchen gefundene Immunität scheint nur darin zu bestehen, daß das Tier imstande ist, eine täglich fortgesetzte Injektion von Gaben zu ertragen, die als einzelne Gaben nicht letal sind, aber bei täglicher Injektion im Laufe kurzer Zeit den Tod verursachen. Es handelt sich also wahrscheinlich um die Entwicklung einer Fähigkeit, weniger stark auf solche Coffeingaben zu reagieren und sie schneller unschädlich zu machen.

Wie in der Einleitung erwähnt, fand Gourewitsch bei seinen vier Immunisierungsversuchen in den untersuchten Organen eine enorme Anhäufung von Coffein (s. die Tabelle S. 17). Auch unsere Unter-

suchungen fanden an Kaninchen statt; die Zeitdauer der Untersuchungen war ungefähr dieselbe in beiden Versuchsreihen, und die Schlußgaben der letzten 3 Wochen waren in unseren Versuchen eher höher als in denen von Gourewitsch. Während dieser Forscher aber, wie die Tabelle zeigt, 2—4 Tage nach der letzten Injektion eine kolossale Anhäufung von Coffein in den Organen vorfindet, fanden wir in den Organen der zwei Tiere, die 48 Stunden nach der letzten Injektion getötet wurden, überhaupt kein Coffein in irgendeinem der untersuchten Organe, und bei dem 24 Stunden nach der letzten Injektion getöteten Tiere nur eine sehr geringe Menge — 0,0016 % — in der Leber, während es nicht gelang, Coffein in den Muskeln, den Nieren noch dem Hirn nachzuweisen. Unsere Untersuchungen stehen also in diesem Punkt in dem möglichst starken Gegensatz zu Gourewitschs Befund. Wir fanden bei unseren Immunitätsversuchen keine Andeutung einer Anhäufung von Coffein in den Organen. Ein Vergleich unserer Immunitätsversuche an Kaninchen mit unseren Versuchen an Ratten, bei denen (Versuch 4) 24 Stunden nach einer einzelnen Coffeininjektion kein Coffein im Tiere vorgefunden wurde, wogegen in Versuch 6, wo 4 Tage nacheinander Coffein injiziert wurde, 24 Stunden nach der letzten Injektion doch eine geringe Menge von Coffein (14 % der Tagesgabe) im Tiere vorgefunden wurde, scheint eher darauf zu deuten, daß die Zersetzung des Coffeins im Organismus bei immunisierten Tieren schneller vonstatten geht als bei normalen Tieren. Eine gesteigerte Ausscheidung durch den Harn findet nämlich bei der Immunisierung nicht statt, wie dieses aus dem Versuch 14 ersichtlich sein wird. Die im Harn täglich ausgeschiedene Coffeinmenge betrug hier zu Ende des Versuches nur 4 % der injizierten Tagesgabe, also weniger als man nach Salant und Rieger gewöhnlich nach einer einzelnen Injektion bei normalen Kaninchen findet. Die beschränkte Angewöhnung an Coffein, die sich bei Kaninchen erzielen läßt, kann sich deshalb wohl schwierig, wie Gourewitsch es meint, mit einer aktiv erworbenen Zellimmunität in Verbindung bringen lassen; wir sind vielmehr geneigt, anzunehmen, daß die Angewöhnung mit einer gesteigerten Zerstörungsfähigkeit des Organismus dem Gift gegenüber in Verbindung steht.

Eine Erklärung des absoluten Gegensatzes zwischen dem Ergebnis von Gourewitschs Immunitätsversuchen und unseren Untersuchungen sind wir keineswegs imstande zu geben. Wir sind der Ansicht, daß unser Verfahren zur Isolierung des Coffeins zuverlässiger ist, als das von Gourewitsch angewandte und reinere Produkte liefert, aber die untenstehenden Kontrolluntersuchungen zeigen, daß wir auch bei Be-

folgung der von Gourewitsch benutzten Methode recht brauchbare Resultate erhalten konnten.

1. 0,1868 g Coffein wurden in Wasser gelöst und mit 100 g Muskelbrei innig vermenzt; die Masse wurde genau nach Gourewitsch analysiert. Es wurde 0,1772 g »Coffein« gefunden. In der Hälfte des gefundenen Produktes wurde der Stickstoffgehalt bestimmt, der für das gesamte Produkt 0,1718 g Coffein entsprach. Die andere Hälfte des Produktes wurde durch Jodfällung und Chloroformausschüttelung gereinigt. Im Rückstand wurde durch Stickstoffbestimmung 0,0834 g Coffein gefunden; also enthielt das gefundene Produkt 0,1668 g Coffein oder 89 % der zugesetzten Coffeinmenge.

2. 100 g Muskelbrei wurden ohne Coffeinzusatz nach Gourewitsch analysiert. Es wurde 0,0019 g »Coffein« gefunden. Der Stickstoffgehalt des Produktes entsprach 0,0003 g Coffein.

Wir können uns nach diesen Kontrollbestimmungen nicht wie Salant und Rieger (s. oben) ablehnend gegen die von Gourewitsch benutzte Methode verhalten. Die Ursache der ganz widerstreitenden Resultate, zu denen Gourewitsch und wir gekommen sind, läßt sich nicht in den benutzten Methoden finden. Wir müssen deshalb Gourewitschs Befunde einer genaueren Analyse unterwerfen.

Wir müssen erstens darauf aufmerksam machen, daß bei unseren Untersuchungen, wenn dieses überhaupt möglich war, weit größere Mengen von Organen in Arbeit genommen wurden, als bei Gourewitschs Untersuchungen.

Betrachten wir ferner die von Gourewitsch gefundenen Coffeingehalte der verschiedenen Organe immunisierter Tiere, so muß die gefundene Anhäufung als eine ganz kolossale bezeichnet werden. Im Hirn wurden z. B. 2,6 % (Versuch 3), in den Muskeln 0,9 % (Versuch 3) und in der Leber 1,2 % (Versuch 4) Coffein gefunden. Setzen wir die Trockensubstanz der betreffenden Organe zu 25 % an, so sollten sich hiernach bei immunisierten Tieren in der Trockensubstanz des Hirns etwa 10 %, der Muskeln etwa 4 % und der Leber etwa 5 % Coffein finden. Eine solche Anhäufung eines Giftes in den Organen muß unser höchstes Erstaunen erwecken, und von keinem anderen körperfremden Stoff ist auch nur annäherungsweise eine solche Anhäufung bekannt.

Bei Gourewitschs Versuchen, bei denen enorme Anhäufungen von Coffein gefunden wurden, hatten die verschiedenen Versuchstiere beinahe dieselbe Zeit hindurch dieselben Coffeingaben erhalten. Es wäre nun zu erwarten, daß dasselbe Organ bei den verschiedenen Tieren annäherungsweise denselben Prozentgehalt von Coffein aufweisen sollte. Dies war aber durchaus nicht der Fall. So enthält bei Ver-

such 3 die Leber 0,16%, bei Versuch 4 1,2% Coffein. Und selbst wenn die absoluten Zahlen bei den verschiedenen Versuchen etwas schwankten, so wäre doch wohl mit Sicherheit zu erwarten, daß das Coffein in den Organen der verschiedenen Tiere sich in demselben Verhältnis verteilen müßte, so daß z. B. das Verhältnis zwischen dem prozentischen Coffeingehalt der Muskeln und der Leber sich bei den verschiedenen Versuchen als ziemlich konstant ergeben würde. Ein Blick auf die Tabelle S. 17 zeigt, daß dies nicht der Fall ist. So ist bei Versuch 3 das Verhältnis zwischen dem prozentischen Coffeingehalt der Muskeln und der Leber 1:0,173, bei Versuch 4 1:1,7; mit dem Coffeingehalt der Muskeln verglichen, ist also der prozentische Coffeingehalt der Leber zehnmal größer bei Versuch 4 als bei Versuch 3.

Schließlich wäre wohl zu erwarten, daß eine Anhäufung von Coffein in den Organen eines Tieres, und speziell im Zentralnervensystem, nachweisbare Veränderungen des Zustandes des Tieres und seiner Reaktion gegenüber Coffein bewirken müßte. Dies war aber eigentlich nicht der Fall. Wenn in unseren Versuchen die Gaben gesteigert wurden, namentlich wenn man sich der Schlußgabe näherte, wurden mehrmals Unruhe, stark gesteigerte Reflexe und krampfartige Zuckungen beobachtet. Diese Tiere, die also nach Gourewitschs Versuchen viele Gramm Coffein enthalten sollten, reagierten also bei einer Steigerung der Tagesgabe um wenige Zentigramm ungefähr wie ein nicht angewöhntes Tier gegenüber der Injektion der betreffenden, ein einzelnes Mal oder wenige Tage nacheinander injizierten Coffeinmenge reagiert haben würde. Nicht selten wurde bei der Steigerung der Gabe ein Gewichtsverlust beobachtet; das Gewicht nahm aber wieder zu, wenn einige Zeit hindurch mit derselben Gabe fortgesetzt wurde. Von diesen Fällen abgesehen, boten die Tiere unserer Versuche bei fortgesetzter Coffeinzufuhr nichts Abnormes dar.

Wir müssen nach den obenstehenden Betrachtungen Gourewitschs Befunden gegenüber die Richtigkeit unserer Versuchsergebnisse, die auch durch die angeführten Tatsachen unterstützt wird, bestimmt aufrecht erhalten und behaupten, daß auch nach Monate hindurch fortgesetzter, täglicher Injektion großer Coffeinemengen keine Anhäufung von Coffein im Organismus stattfindet. 24—48 Stunden nach der letzten Injektion ist das Gift vollständig aus dem Körper verschwunden.

Die Frage, inwiefern eine Magazinierung des Coffeins in den Organen stattfinden kann, ist auch von Bedeutung für die Beurteilung der vorliegenden Untersuchungen über die Zersetzung des Coffeins im

Organismus. Eine Reihe verschiedener Untersucher (Albanese¹⁾, Bondzynski und Gottlieb²⁾, Krüger und Schmidt³⁾ u. a.) haben nach Eingabe von Coffein im Harn Dimethylxanthine und Monomethylxanthine gefunden. Als Methylxanthine wurden aber bei Krüger und Schmidts quantitativen Versuchen nur 22,43% der eingegebenen Coffeinmenge wiedergefunden. Ob das Coffein eine Steigerung der Harnsäure- oder Allantoinausscheidung hervorruft, ist noch eine streitige Frage. Die meisten Forscher haben keine sichere Steigerung nachweisen können, und selbst wo eine solche beobachtet wurde, war sie nur gering, so daß weit der größte Teil einer eingegebenen Coffeinmenge weder als Methylxanthin noch als Harnsäure oder Allantoin nachzuweisen ist. Bei vielen dieser Untersuchungen wurde das Coffein längere Zeit hindurch täglich eingegeben; so wurde in den grundlegenden Versuchen von Krüger und Schmidt an Hunden das Coffein 18 Tage hindurch eingegeben. Man könnte sich nach Gourewitschs Versuchen denken, daß die Coffeinmenge, die nicht als Methylxanthin, Harnsäure oder Allantoin im Harn wiedergefunden wird, in den Organen angesammelt sein würde. Nach unseren Untersuchungen ist dies aber nicht der Fall, und man muß annehmen, daß der größte Teil des einverleibten Coffeins im Organismus vollständig zersetzt wird.

Ergebnisse.

1. Im Organismus der untersuchten Tiere (Hund, Kaninchen, Ratte) wurde das Coffein mit Leichtigkeit zersetzt. So enthielt bei Ratten der Körper nach 6 Stunden nur 60%, nach 12 Stunden nur 36% der injizierten Coffeinmenge. 24—48 Stunden nach der Eingabe ließ sich das Coffein im Tierkörper nicht mehr nachweisen.

2. Das Coffein verteilt sich sehr gleichmäßig auf die verschiedenen Gewebe und Flüssigkeiten des Organismus. So wurde nach intravenöser Injektion in den Muskeln, dem Hirn, dem Blut und dem Verdauungskanal mit Inhalt beinahe derselbe prozentische Coffeingehalt vorgefunden. Nur die Leber wies einen etwas größeren Coffeingehalt auf.

3. Eine Angewöhnung bei täglicher Zufuhr von Coffein läßt sich beim Kaninchen nur in sehr beschränktem Maße erzielen und scheint

1) M. Albanese, Dieses Archiv Bd. 35, S. 456, 1895.

2) St. Bondzynski und R. Gottlieb, Dieses Archiv Bd. 36, S. 54, 1895.

3) M. Krüger und B. Schmidt, Berichte der deutschen chem. Gesellsch. Bd. 32, S. 2677, 1899.

wesentlich darin zu bestehen, daß Coffeingaben die bei normalen Tieren bei mehrere Tage hindurch fortgesetzter Eingabe den Tod herbeiführen, von den angewöhnten Tieren vertragen werden. Eine Vermehrung der Coffeinausscheidung durch den Harn findet bei der Angewöhnung nicht statt. Bei der Angewöhnung findet sich keine Aufstapelung von Coffein in den Organen, und nach einer Unterbrechung der Coffeinzufuhr enthält der Körper nach 48 Stunden kein Coffein mehr.