

Untersuchung meist weniger als 10 ccm, da ja die Arzneien, selbst wenn sie eßlöffelweise genommen werden, bedeutend mehr als 10 mg% Barbitale enthalten. Das Ergebnis des Chloroformtestes braucht dann zur Ermittlung des Barbitolgehaltes nur entsprechend umgerechnet zu werden, was besonders bei Ausgang von 1 ccm Untersuchungsmaterial und Auffüllen auf 10 ccm Untersuchungslösung recht einfach ist.

Über Einzelheiten solcher Untersuchungen soll an anderer Stelle berichtet werden.

Natürlich ist der mit dieser Methode gefundene Barbitolgehalt immer nur approximativ, wenn er auch durch Kontrollbestimmungen mit verschiedenen Ausgangsmengen oder durch Abänderung der Verdünnungsweise des Chloroformextraktes genauer ermittelt werden kann. Für exakte Analysen von Arzneimitteln müssen also wie beim Harn quantitative Methoden herangezogen werden.

Da es aber viele Hersteller von Arzneimitteln und Mixturen für richtig halten, durch abwegige Phantasienamen den Gehalt des Mittels an Barbitursäurederivaten zu verschleiern, ist oft die Schnellbestimmung des approximativen Barbitolgehaltes recht wichtig. Es gelingt jedenfalls schneller, mit Hilfe dieser Methode hinter das Geheimnis mancher „Deklaration“ zu kommen als durch langes, oft vergebliches Suchen in Zentralblättern und Kodizes.

Durch die approximative Schnellbestimmung kann also die kritische Beurteilung vieler Arzneimittel erleichtert werden, so daß sich diese Methode auch bei der Arzneimitteluntersuchung im Apothekenlaboratorium in vielen Fällen als brauchbar erweisen dürfte.

---

## 672. R. Dietzel und E. Schmidt:

### Über die Inhaltsstoffe von *Orthosiphon stamineus* Benth.

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität München und dem Institut für pharmazeutische und angewandte Chemie der Universität Erlangen).

Eingegangen am 1. August 1935.

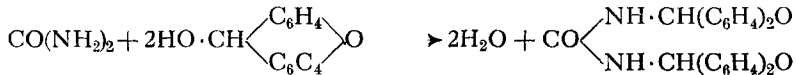
Gelegentlich einer längeren Untersuchung<sup>1)</sup> über die Inhaltsstoffe von *Orthosiphon stamineus* Benth.<sup>2)</sup> wurde eine nicht unwichtige Feststellung gemacht, die bereits jetzt mitgeteilt sei. Beobachtungen im Laufe dieser Untersuchung ließen die Vermutung aufkommen, daß die Droge harnstoffhaltig sei; eine daraufhin durchgeführte syste-

<sup>1)</sup> Hierüber soll später berichtet werden, da sie wegen einer in der Zwischenzeit von O. Keller (Arch. Pharmaz. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges. 272, 242 [1934]) über diesen Gegenstand veröffentlichten Arbeit einiger Nachprüfungen und Ergänzungen bedarf.

<sup>2)</sup> Vgl. E. Schmidt, Dissertation, Universität München 1935.

matische Prüfung der wässerigen und alkoholischen Drogeauszüge hat diese Vermutung bestätigt.

Harnstoff findet sich verschiedentlich im Pflanzenreich. In niederen Pflanzen, besonders den Pilzen, kommt er meist in freier Form, in höheren Pflanzen, z. B. den Canabinaceen, Aceraceen, Cucurbitaceen und Gramineen, in Form von Ureiden vor. Zu seinem Nachweis, der in verschiedener Weise geführt werden kann, eignet sich vor allem die Probe nach F o s s e<sup>3)</sup> mit Xanthidrol:



Der gebildete, in farblosen Nadeln kristallisierende Dixanthylharnstoff sublimiert zwischen 190° und 240°, schmilzt unter Zersetzung bei etwa 260° und ist in kaltem Alkohol sowie in Wasser praktisch unlöslich.

Eine Reihe von Vorversuchen zeigte, daß Lösungen des wässerigen Trockenextraktes 1:10 sowie Dekokte und Infuse der Droge 10:200 nach Zusatz von 5%igen essigsäuren Xanthidrollösungen dicke, weiße, voluminöse Niederschläge ergaben. Zwecks näherer Untersuchung derselben wurde die bei 80° getrocknete Droge mit 10%iger Essigsäure extrahiert und 20 Minuten lang am Rückflußkühler gekocht. Dadurch wird einmal eine Spaltung der gegebenenfalls vorhandenen Ureide, zum anderen eine weitgehende Reinigung des Extraktes erreicht. Das Extrakt wurde nun filtriert, mit Essigsäure bis zu einer Konzentration von etwa 60% versetzt und das Reagens in 10%iger methylalkoholischer Lösung portionsweise zugesetzt. Der Niederschlag wurde auf einer Glasnutsche gesammelt, mit Methylalkohol gewaschen und aus kochendem Pyridin umkristallisiert. Es resultierten lange, farblose, in Büscheln angeordnete Nadeln vom Schmelzpunkt 196°. Außerdem wurden aus reinem Harnstoff, Thioharnstoff und Guanidin Xanthidrolniederschläge erzeugt und mit dem erhaltenen Reaktionsprodukt verglichen. Es ergab sich in keinem Falle Identität, weder hinsichtlich der Kristallform noch bezüglich des Schmelzpunktes.

Um die Möglichkeit zu prüfen, ob diese Unterschiede auf Verunreinigungen zurückzuführen seien, die durch den Extraktionsgang bedingt waren, wurde der wässerige Auszug der Droge (150 g Droge und 1500 ccm Wasser) einer Reinigung unterzogen.

1. 500 ccm des 10%igen Dekoktes wurden zunächst unter Umschütteln mit etwa 200 ccm Liquor ferri oxydati dialysati und sodann unter kräftigem Umschütteln auf einmal mit einigen Kubikzentimetern einer 10%igen Magnesiumsulfatlösung versetzt<sup>4)</sup>. Nach 15 Minuten langem Stehen trat fast vollständige Entfärbung ein. Es wurde abfiltriert und wie oben mit Xanthidrol gefällt.

<sup>3)</sup> Ann. Inst. Pasteur 30, 526 (1916); Ann. Chim. [9] 6, 66 (1916); C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 158, 1076 (1914); 159, 253, 367 (1914).

<sup>4)</sup> Rona und Michaelis, Biochem. Z. 27, 348 (1910).

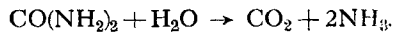
Auch dieser Niederschlag stimmte hinsichtlich Schmelzpunkt und sonstigen Eigenschaften mit keiner der Vergleichsfällungen überein.

2. 500 ccm des 10%igen Dekoktes wurden nach Folin und Wu<sup>5)</sup> mit einer 10%igen Natriumwolframatlösung versetzt. Nach guter Mischung wurde langsam das gleiche Volumen  $\frac{2}{3}$ -n-Schwefelsäure hinzugefügt und das Gemisch nach kräftigem Umschütteln 5 Minuten lang stehen gelassen.

Da es nicht hierbei gelang, Entfärbung zu erzielen, wurde das Verfahren aufgegeben.

Es zeigte sich somit, daß auf diesen Wegen der Reinigung keine eindeutigen Ergebnisse zu erzielen waren. Wir versuchten deshalb, in anderer Weise, und zwar durch Spaltung der vermuteten Harnstoffderivate mittels Urease zum Ziele zu gelangen. War in der Droge Harnstoff vorhanden, so mußten als Spaltprodukte Ammoniak und Kohlendioxyd auftreten, die dann auf titrimetrischem bez. manometrischem Wege quantitativ bestimmt werden konnten.

Bekanntlich wird Harnstoff beim Erhitzen mit Säuren oder Alkalien in Ammoniak und Kohlendioxyd zerlegt:



Urease bewirkt diese Spaltung schon bei gewöhnlicher Temperatur. Bei dem auf kaltem Wege hergestellten Drogenextrakt wird durch Ureasewirkung der freie Harnstoff erfaßt, während beim Infus und Dekokt auch gebundener Harnstoff nachgewiesen werden kann.

Die für die Spaltung erforderliche Ureaselösung wurde aus Sojabohnenmehl in folgender Weise gewonnen:

3 g Permutit wurden einmal mit 2%iger Essigsäure und zweimal mit Wasser gewaschen. Dann wurde die Waschflüssigkeit abgesehen und das feuchte Permutit mit 5 g feinem Sojabohnenmehl und ungefähr 100 ccm 15%igem Alkohol versetzt. Nach 15 Minuten langem mäßig starkem Schütteln wurde das Gemisch auf ein Filter gebracht und mit einem Uhrglas bedeckt. Die so erhaltene Lösung ist bei Zimmertemperatur und vor Licht geschützt eine Woche lang, bei Aufbewahrung im Eisschrank mehrere Wochen haltbar.

Das Kaltextrakt wurde folgendermaßen hergestellt: 10 g Droge wurden unter allmählichem Zusatz von 200 ccm Wasser bei Zimmertemperatur gründlich mit Quarzsand verrieben und durch Watte filtriert. Da das frisch bereitete Extrakt normalerweise ein  $\text{pH} < 6$  besitzt, die Urease aber mit ihrem Wirkungsoptimum bei  $\text{pH} \approx 7$  den Harnstoff bei  $\text{pH} < 6$  nicht in einer in gegebener Zeit meßbaren Menge zerlegt, wurde die Wasserstoffionenkonzentration mittels einer  $\frac{m}{16}$ -Phosphatpufferlösung nach Sørensen ( $\text{pH} = 7.2$ ) auf den günstigen Wert eingestellt.

<sup>5)</sup> Folin und Wu, J. biol. Chemistry 38, 81 (1919).

Bestimmung des aus der Droge durch Urease freigemachten Kohlendioxyds nach Barcroft<sup>6)</sup>.

Die Barcroft'sche Methode erfuhr für unseren Fall eine geringe Abänderung. Als Manometer dienten Differentialmanometer in Form von U-förmig gebogenen Kapillaren von 1 mm Durchmesser und etwa 30 cm Schenkellänge. Der eine Schenkel war mit dem Versuchsgefäß, der andere durch einen dickwandigen Kapillarschlauch mit dem Vergleichsgefäß verbunden. Jeder Manometerschenkel konnte mittels eines Hahnes auf atmosphärische Druckverhältnisse gebracht werden. Als Sperrflüssigkeit wurde Petroleum benutzt, das mit Ceresrot angefärbt war. Versuchs- und Vergleichsgefäß tauchten in einen elektrisch heizbaren, mit Rührwerk und Kühlschlange versehenen Wasserthermostaten, der auf 37° eingestellt war.

Im Gegensatz zu Barcroft, der bei konstantem Volumen und konstanter Temperatur arbeitet und bei dessen Verfahren aus den Druckänderungen die gebildete oder verbrauchte Gasmenge errechnet wird, benutzten wir eine erstmals von E. Münzer und W. Neumann<sup>7)</sup>, später von J. Wüst<sup>8)</sup> verbesserte volumetrische Eichungsmethode (vgl. Abb. 1).

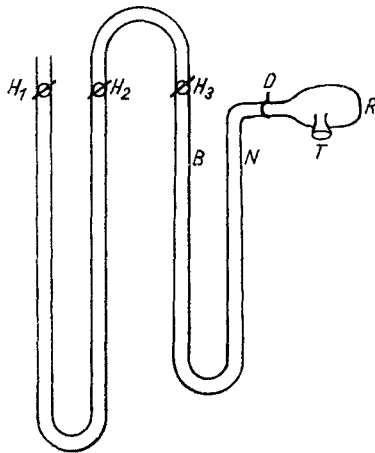


Abb. 1.

An das Versuchsgefäß wird oberhalb des geöffneten Dreiwegehahns  $H_3$  mittels eines Druckschlauches und eines eng gekrümmten U-Rohres eine Meßbürette B Glas an Glas angeschlossen. Durch diese

<sup>6)</sup> J. Barcroft und J. Haldane, *J. Physiology* **28**, 232 (1902).  
 J. Barcroft und H. Burn, ebenda **45**, 493 (1912/13), J. Barcroft und L. Higgins, ebenda **42**, 512 (1911). J. Jany, *Angew. Chem.* **44**, 349 (1931)  
 H. A. Krebs, *Methodik der wissenschaftl. Biol.* **II**, 1048 (1928). R. Ruhn und K. Meyer, *Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem.* **185**, 193 (1929)

<sup>7)</sup> E. Münzer und W. Neumann, *Biochem. Z.* **65**, 273 (1914)

<sup>8)</sup> J. Wüst, *Z. Biol.* **92**, 156 (1931).

wird durch Heben oder Senken der Sperrflüssigkeit (Hg) mit Hilfe des Niveaugefäßes N ein abgemessenes Gasvolumen in das Versuchsgefäß eingedrückt oder herausgesaugt. Als Niveaurohr N dient eine Bürette von genau gleicher Weite wie die Eichbürette B. Am geeignetsten dafür sind Feinbüretten (1 ccm Inhalt) mit abgeschnittenen Spitzen, die in 0.01 ccm untergeteilt sind, so daß ein Abschätzen auf Kubikmillimeter möglich ist. Als Sperrflüssigkeit dient Quecksilber, das mit Hilfe des in die Kugel R geblasenen Trichters T in solcher Menge eingeführt wird, daß die Menisken sich ungefähr in der Mitte der Büretten befinden. Die Kugel ist seitlich angebracht, damit die Büretten bei der Niveaueinstellung unmittelbar aneinandergebracht werden können. Der Drahthaken D dient zur Aufhängung des Niveaurohres in der gewünschten Höhe. Bei der Eichung wird die Meßbürette mittels eines Statives festgehalten, um ein Verbiegen oder Verzerren des Druckschlauches an der Verbindungsstelle mit dem Manometer zu verhindern.

Das Prinzip der Eichung beruht darauf, daß die im Versuchsgerät enthaltene Gasmenge um einen gemessenen Betrag  $v_e$  verändert und der dabei auftretende Manometerausschlag  $h_e$  registriert wird. Division beider Größen und Reduktion von  $v_e$  auf Normalzustand liefert die sog. Gefäßkonstante K, d. h. die Gasmenge, deren Entstehen oder Verschwinden im Versuchsgefäß einen Manometerausschlag von 1 mm hervorruft.

Die Eichung wird wie folgt ausgeführt: Zunächst werden die beiden Manometerhähne  $H_1$  und  $H_2$  und der Dreiweghahn  $H_3$  geöffnet, so daß sich in den angeschlossenen Gefäßen (Versuchs- und Vergleichsgefäß) und in der Bürette Atmosphärendruck einstellt. Nach Ablesung des Standes der Menisken am Manometer und in der Bürette wird der Manometerhahn  $H_1$  geschlossen und der Dreiweghahn  $H_3$  so gestellt, daß Verbindung zwischen Bürette und Versuchsgefäß besteht. Nun wird, je nachdem beim Versuch Gas verbraucht wird oder entsteht, das Niveaurohr N solange gehoben oder gesenkt, bis das Manometer einen genügend großen Ausschlag anzeigt. Dann wird der Hahn  $H_2$  geschlossen und das Niveaurohr so gestellt, daß sein Meniskus mit dem der Bürette B auf gleicher Höhe steht. Die Differenz der beiden Bürettenablesungen ergibt das Volumen des im Versuchsgefäß entwickelten Gases, gemessen bei Atmosphärendruck und 37°. Beträgt der Manometerausschlag  $h_e$  mm, das Volumen des eingedrückten oder herausgesaugten Gases  $v_e$  mm<sup>3</sup>, der atmosphärische Druck  $p$  mm, und ist T die absolute Temperatur der Bürette, abgelesen am einfachsten mit Hilfe eines mit der Eichbürette fest verbundenen Thermometers, das bei Lupenablesung noch 0.2° abzuschätzen gestattet, so errechnet sich die Gefäßkonstante K aus folgender Beziehung:

$$K = \frac{273 \cdot p \cdot v_e}{T \cdot 760 \cdot h_e}$$

Diese Eichmethode bietet den Vorteil, daß sie an der fertig zusammengestellten und mit dem Versuchsobjekt beschickten Appa-

ratur unter den Volumen-, Druck- und Temperaturverhältnissen des eigentlichen Versuches ausgeführt werden kann. Die Verwendung einfacher Präparatengläser mit festsitzenden, durchbohrten Gummistopfen bringt keine Minderung der Genauigkeit mit sich. Auch die empfindlichen Glaskapillaren zwischen Manometer und Gefäßen können bei den nur geringen Druckunterschieden durch 2 mm starke Kapillarschläuche ersetzt werden.

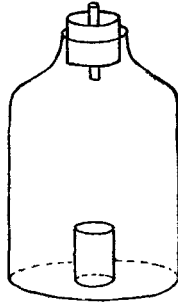


Abb. 2.

Als Versuchs- und Vergleichsgefäße wurden Flaschen von ungefähr 50 ccm Inhalt mit aufgerauhtem Hals (vgl. Abb. 2) verwendet. Durch den Stopfen derselben wurde eine dickwandige Kapillare — ähnlich dem Manometerrohr — geführt, an die der Kapillarschlauch angeschlossen war. Versuchs- und Vergleichsgefäß wurden mittels eines Galgens am beweglichen Brett des Thermostaten befestigt. Sie tauchten vollständig in das Thermostatenwasser ein. Auf dem Innenboden der Gefäße waren kleine Becher angeschmolzen, die zur Aufnahme von Schwefelsäure (30%) dienten, um das während des Versuchs gebildete Kohlendioxyd auszutreiben. Die Eichung wurde jeweils zu Versuchsbeginn ausgeführt, und zwar durch Senken des Niveaurohres, um eine mit den Versuchsbedingungen gleichlaufende Druckänderung zu erhalten.

Das zu den Versuchen verwendete Extrakt wurde mit einigen Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt und mit kohlendioxydfreier Kalilauge so weit neutralisiert, daß es Lackmus schwach blau färbte, dagegen selbst noch nicht gefärbt wurde. Das Versuchsgefäß wurde mit 5 ccm Extrakt, 2 ccm destilliertem Wasser, 1 ccm kohlenstofffreier Ureaselösung und 1 ccm  $m/15$ -Phosphatpuffer ( $pH = 7,2$ ), das Kontrollgefäß mit 5 ccm Extrakt, 1 ccm Pufferlösung und 3 ccm einer schwachen kohlenstofffreien Merkurizyanidlösung beschickt.

Es wurden auf diese Weise im Mittel aus je 3 Bestimmungen gefunden:

1. Kaltextrakt: 14 mg Harnstoff.
2. Dekokt: 40 mg Harnstoff.

Die Werte beziehen sich auf 100 g lufttrockene Droge. In 100 g Droge sind mithin 40 mg Gesamtharnstoff und 14 mg freier Harnstoff bzw. 26 mg in Form von Ureiden gebundener Harnstoff enthalten.

### Bestimmung des aus der Droge durch Urease entwickelten Ammoniaks.

Die Bestimmung erfolgte nach Folin<sup>9)</sup>. Ein Kjeldahlkolben von 100 ccm Inhalt wurde mit 5 ccm Extrakt, 1 ccm Pufferlösung, 1 ccm Ureaselösung und zur Verhinderung des Schäumens mit 3 Tropfen Oktylalkohol beschickt. Der Reaktionskolben war während des ganzen Versuches mit einer mit Schwefelsäure gefüllten Waschflasche sowie mit der Säurevorlage luftdicht verbunden. Ein schwacher Luftstrom (etwa 5 Blasen in der Sekunde) wurde mittels einer Wasserstrahlpumpe ständig durch die Apparatur hindurchgesaugt. Die Vorlage enthielt 25 ccm  $n_{50}$ -Salzsäure. Der Reaktionskolben befand sich in einem Wasserbad, das auf 50° eingestellt war. Nach halbstündigem Stehen wurde er mit 4 bis 5 g trockener Soda beschickt, rasch wieder verschlossen und  $\frac{1}{2}$  Stunde lang Luft hindurchgesaugt. Zum Schluß wurde die nicht gebundene Salzsäure mit  $n_{50}$ -Lauge zurücktitriert.

Die auf diese Weise aus den Ammoniakwerten errechneten Harnstoffgehalte, unter Berücksichtigung des im Extrakt an sich vorhandenen Ammoniakwertes, waren dieselben wie die aus den Kohlendioxydwerten erhaltenen<sup>10)</sup>.

<sup>9)</sup> J. biol. Chemistry 11, 493 (1912).

<sup>10)</sup> Zu gleichen Ergebnissen gelangte Prof. Felix, der auf unseren Wunsch in liebenswürdiger Weise die Versuche im Chemischen Laboratorium der II. Mediz. Klinik der Universität München wiederholte, wofür ihm auch an dieser Stelle bestens gedankt sei. — Ferner sind wir Herrn Prof. Bleyer, München, für einige wertvolle Hinweise zu Dank verpflichtet.

---

### 673. F. Schlemmer, Percy H. A. Wirth und H. Peters:

#### Die Bestimmung von Mutterkorninhaltsstoffen nach verschiedener Methodik.

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität München.)

Eingegangen am 13. August 1935.

In dieser Zeitschrift<sup>1)</sup> wurden bereits vor einigen Jahren die Ergebnisse spektrographischer Untersuchungen über die Inhaltsstoffe des Mutterkorns, in erster Linie die Alkaloide und weiterhin die biogenen Amine, veröffentlicht. Diese Versuche wurden fortgesetzt. Das Ergotinin, das damals nicht zur Verfügung stand, und fernerhin zwei in neuerer Zeit aus der Mutterkorndroge isolierte Alkaloide, das **Ergoclovin** und das **Sensibamin**, wurden in den Bereich der Unter-

<sup>1)</sup> F. Schlemmer und H. Schmitt, Arch. Pharmaz. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges. 270, 15 (1931); 270, 29 (1931).