

Über die Einwirkung von Schimmelpilzen auf den Alkaloidgehalt des Opiums.

Von

Oscar v. Friedrichs.

(Der Redaktion zugegangen am 8. November 1914.)

Die Schimmelpilze vermögen bekanntlich auf den verschiedensten Substraten zu vegetieren und erhalten hierbei den organischen Stoff sowohl in Gestalt einfacher Verbindungen, wie auch in Gestalt von Verbindungen, deren Moleküle sehr kompliziert gebaut sind. Unter solchen Körpern sind es vor allem die Kohlenhydrate, Mono- wie Polysaccharide, und ihnen nahestehende Körpergruppen sowie Eiweißstoffe, deren Verhalten gegen die Pilze untersucht worden ist. Bei allen untersuchten Arten von Aspergillaceen ist die Gegenwart von Enzymen als Trägern zersetzender Wirkungen konstatiert worden. Ganz besonders sind es *Aspergillus niger* und die Sammelpezies «*Penicillium glaucum*», welche als Versuchsobjekte zu diesen Untersuchungen herangezogen worden sind. Inwiefern Alkaloide von den Enzymen der Pilze abgebaut werden können, ist nur in beschränktem Maße geprüft worden. Im allgemeinen scheinen sie gegen Enzyme sehr widerstandsfähig zu sein; doch deutet die Abnahme des Alkaloidgehalts mancher Drogen bei längerem Lagern (Mutterkorn, Cocablättern u. dgl.) auf eine Zerstörung der Alkaloide durch enzymatische Vorgänge hin. Als Nährstoffe scheinen die Alkaloide im allgemeinen für Pilze unbrauchbar zu sein. Nur fand Czapek,¹⁾ daß ein *Aspergillus* Chinin zu resorbieren vermochte.

Nicht selten wurden dagegen die toxischen Wirkungen der Alkaloide auf die Schimmelpilze in den Bereich der Unter-

¹⁾ Winterstein und Trier, die Alkaloide, Berlin 1910.

suchungen gezogen, und es ist auffallend wie verschieden die Wirkungen verschiedener Alkaloide in dieser Hinsicht sind. So können nach Manassein¹⁾ Penicilliumsporen in einer 10%igen Saccharoselösung, welcher 0,25% Chininhydrochlorid zugesetzt ist, nicht keimen, während Schimmel dagegen in einer 1%igen Lösung von essigsauerm Strychnin wachsen kann und Penicillium sogar in einer zuckerhaltigen Nährlösung, welcher 1% Morphinhydrochlorid zugesetzt ist, ziemlich gut gedeiht. Nach Marcacci²⁾ wird die Milchsäuregärung, um von einer anderen Art von Mikroorganismenwirkung zu sprechen, durch Morphin und Atropin begünstigt, durch Chinin und Strychnin aber verzögert. A priori kann man deshalb voraussetzen, daß diejenigen Alkaloide, welche starke Giftwirkungen besitzen, überhaupt nicht von den Schimmelpilzen zerstört werden können.

Die Alkaloide, welche bei dieser Untersuchung in Betracht kommen können, nämlich die Opiumalkaloide, sind bekanntlich nicht weniger als etwa 22 an der Zahl, von welchen das Morphin das weitaus wichtigste ist und in einer Menge von 10—14% auftritt. Dann folgen Narkotin, dessen Menge zwischen 4 und 8% schwankt, Papaverin und Kodein, welche meist in Mengen vorkommen, die nicht viel von 1% differieren, und schließlich Thebain und Narcein, welche zusammen 0,5—1% erreichen.

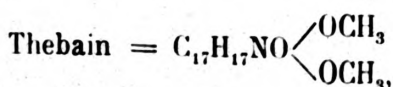
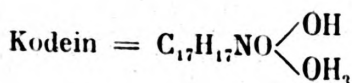
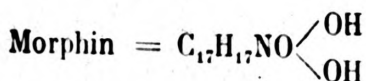
Wegen der Schwierigkeit, exakte Analysenwerte auf sämtlichen dieser Basen zu erhalten, wurde nach Einwirkung des betreffenden Pilzes nur der Gehalt an Morphin, Narkotin und Kodein geprüft, obgleich die Menge speziell an zurückbleibendem Thebain auch von großem Interesse war. Es ist nämlich aus folgenden Gründen anzunehmen, daß einen Verbrauch von Kodein auch ein Verbrauch von Thebain begleitet.

Die chemische Konstitution ist für die physiologischen Wirkungen von großer Bedeutung, und von Wichtigkeit ist in diesem Falle, daß sehr auffallende Unterschiede in der Wirkung entstehen, wenn die Wasserstoffatome der Hydroxylgruppen

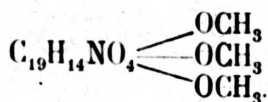
¹⁾ O. Loew. Ein natürliches System der Giftwirkungen, München 1893.

²⁾ Ebenda.

durch Alkyle ersetzt werden. Die Beziehungen zwischen Morphin, Kodein und Thebain gehen aus folgenden Formel-
ausdrücken hervor:



während die Formel des Narkotins sich folgendermaßen ausdrücken läßt:



Durch Einführung von Methylgruppen (oder Methoxylgruppen) werden die toxischen Wirkungen abgeschwächt, und deshalb sollte Morphin dem Pilz größeren Widerstand leisten als Kodein, dieses wiederum größeren als Thebain.

Wie aus den experimentellen Daten hervorgeht, hat es sich nun wirklich gezeigt, daß bei der Entwicklung einer *Aspergillus*-Art Morphin unverändert blieb, während Kodein und Narkotin nicht unwesentlich zersetzt wurden, daß dagegen ein anderer *Aspergillus* mutmaßlich auf alle drei wirkte, auf das Morphin jedoch nur sehr unbedeutend.

Die Versuche wurden mit folgenden Schimmelpilzen angestellt:

Penicillium viridicatum;

Citromyces glaber;

Aspergillus niger;

Aspergillus Ostianus.

Der letztgenannte wurde auf levantischem Opium gefunden und als eine mit größeren Konidien versehene Form des *Aspergillus Ost.* Wehmer von o. Laborator Dr. R. Westling bestimmt, welcher auch die Güte hatte sämtliche Pilze in Reinkultur zu meiner Verfügung zu stellen.

Die Reinkulturen waren von dem Gelatinesubstrat, auf dem sie sich befanden, auf sterilisiertes, gelatinöses Pflaumen-

mus übertragen, und von diesem wurden sie auf das Opium übergeimpft.

Das zu den Versuchen verwendete Opium war aus der offizinellen, von Kleinasien bezogenen Droge hergestelltes Pulver. Nach dem schwedischen Arzneibuche soll das Opium, wenn es mehr als 10,5% Morphin enthält, mit einer berechneten Menge von Milchzucker versetzt werden, und da es nicht ausgeschlossen ist, daß ein solcher Zusatz eine fördernde Wirkung auf das Wachstum des Schimmelpilzes ausüben kann, was seinerseits vielleicht die Zersetzung der Alkaloide beeinträchtigt, so wurde teils mit reinem Opium und teils mit einem Gemenge von Opium (9 T.) und Milchzucker (1 T.) gearbeitet.

40 g Opium, bzw. 10% Milchzucker enthaltendes Opium, wurden in einer genau gewogenen Petrischen Schale von ca. 17 cm Durchmesser ausgebreitet, darauf mit sterilem Wasser bespritzt und sorgfältig verrührt. Die bedeckte Schale wurde in einem Trockenschrank zwei Stunden lang bei 70° C. erhitzt, und nach Erkalten wurden Pilzsporen gezüchtet. Gleichzeitig wurde in einigen Schalen Opium in derselben Weise behandelt, jedoch mit dem Unterschied, daß kein Pilz gesät wurde.

Die Temperatur, bei der die Kulturen erzogen wurden, war eine hohe Zimmertemperatur von 18—22° C.

Nach 3—5 Tagen hatten sich in allen acht Schalen reichliche Mycelien entwickelt; als die Kulturen 10 Tage alt waren, wurden sie mit Hilfe eines ausgeglühten Platindrahtes umgerührt, und nach weiteren zehn Tagen wurden die Schalen zwecks Tötung der Organismen ein paar Stunden bei 70° im Trockenschrank gehalten. Dann wurde nochmals gewogen. Die Wägungen waren dadurch bedingt, daß die verschiedenen Opiumproben nach Befeuchtung und abermaliger Erhitzung eine verschiedene Menge Wasser hielten, was die für die quantitativen Bestimmungen nötigen Gewichtsmengen beeinflussen mußten.

Aus dem Umstande, daß eine kräftige Lebenstätigkeit des Pilzes auf einem alkaloidhaltigen Substrate stattfindet, darf man natürlich nicht auf eine Zersetzung der physiologisch wirksamen Bestandteile schließen, denn es ist eine bekannte

Tatsache, daß Pflanzenstoffe, welche z. B. ätherisches Öl enthalten, stark von Pilzmycelien verunreinigt sein können, ohne daß die Menge des Öles Einbuße erleidet.

Welche Methode man für die Bestimmung des Gehaltes eines Alkaloids vor und nach der Pilzwirkung wählt, ist gleichgültig, wenn sie nur zuverlässig ist und bei allen Analysen unverändert zur Anwendung kommt.

Zur Bestimmung des Morphingehaltes wurde die Vorschrift des schwedischen Arzneibuches befolgt, nach welchem Verf. am häufigsten gearbeitet hat. Es wurde jedesmal von einer Menge ausgegangen, welche 6 g des ursprünglich eingewogenen Opiums, bzw. Opiumgemenges, entsprach. Die in der dritten Kolumne der Tabelle I mitgeteilten Prozentzahlen machen, bezüglich der Milchzuckerhaltigen Proben, $\frac{10}{9}$ der aus dem Säureverbrauch berechneten aus.

Tabelle I.

Analysierte Probe	Abgewogene Menge	Morphingehalt
1. Sterilisiertes Opium	5,88 g	10,79 %
2. „ „ + Milchz.	6,1 „	10,82 „
3. Penicill. viridicat. auf Opium	6,2 „	10,79 „
4. „ „ „ + Milchz.	5,46 „	10,85 „
5. Citromyc. glaber „ „	6,3 „	10,78 „
6. „ „ „ + Milchz.	6,7 „	10,87 „
7. Asperg. niger „ „	6,25 „	10,75 „
8. „ „ „ + Milchz.	7,02 „	10,76 „
9. „ Ostianus „ „	6,0 „	10,51 „
10. „ „ „ + Milchz.	5,63 „	10,58 „

Die Bestimmungen von Narkotin und Kodein wurden nach der von P. van der Wielen¹⁾ angegebenen, verbesserten Methode ausgeführt.

10g Opium wurden am Rückflußkühler mit 100g 70%igem Alkohol eine Stunde gekocht, nach dem Erkalten wurde der

¹⁾ Pharmaz. Weekblad Bd. 40, S. 938; durch Chem. Zentralbl. Bd. 74, I, S. 938.

verdampfte Alkohol ersetzt, die Lösung filtriert, der Extraktgehalt in 5 g Filtrat bestimmt und eine 3 g Opium entsprechende Menge des Auszuges auf 3 g eingedampft. Dieser Rückstand wurde in eine Flasche gebracht, die Schale dreimal mit je 2,5 ccm Wasser gespült, 90 g Äther und alsdann 5 ccm 10%ige Natronlauge wurden zugesetzt; während 3 Stunden wurde bisweilen umgeschüttelt, 3 g Tragant wurden hinzugefügt, 75 g der klaren ätherischen Lösung abgehoben und eingedampft, und der Verdampfungsrückstand unter Erwärmen in 4 g 90%igem Alkohol gelöst. Nach 24 Stunden wurden die abgeschiedenen Krystalle von Narkotin abfiltriert, mit 5 ccm Alkohol gewaschen, dann getrocknet und gewogen. Wegen der Löslichkeit des Narkotins in 90%igem Alkohol werden 0,016 g zu diesem Gewicht addiert.

Zur Bestimmung des Kodeins wurde das alkoholische Filtrat eingedampft, 10 ccm Wasser wurden hinzugefügt, auf dem Wasserbade wurde auf 10 g eingedampft, nach 24 Stunden von dem ausgeschiedenen Harz filtriert, dieses wurde ausgewaschen, das Filtrat mit 50 ccm $n/100$ Salzsäure und 3 Tropfen Hämatoxylinlösung versetzt und mit $n/100$ Natronlauge titriert.

Die Methode gibt gut, für Narkotin sogar ausgezeichnet, übereinstimmende Werte.

Tabelle II.

Analysierte Probe	Abgewogene Menge	Narkotin		Kodein	
		g	%	$n/100$ -HCl	%
1. Sterilisiertes Opium	9,8 g	0,1175	4,70	9,5 ccm	1,14
2. » + Milchz.	10,17 »	0,1064	4,73	8,2 »	1,09
3. Penicill. viridic. auf Opium	10,33 »	0,1188	4,75	9,7 »	1,16
4. » + Milchz.	9,1 »	0,1059	4,71	7,4 »	0,985
5. Citromyc. glaber auf Opium	10,5 »	0,1169	4,68	9,1 »	1,09
6. » » + Milchz.	11,17 »	0,1064	4,73	8,0 »	1,06
7. Asperg. niger auf Opium	10,41 »	0,0996	3,98	7,4 »	0,885
8. » » + Milchz.	11,7 »	0,0857	3,81	7,0 »	0,933
9. » Ostian. auf Opium	10,0 »	0,0750	3,0	7,15 »	0,855
10. » » + Milchz.	9,38 »	0,0778	3,11	6,0 »	0,801

Die untersuchten *Penicillium*- und *Citromyces*-Spezies üben somit auf den Gehalt der geprüften Alkaloide keinerlei Wirkung aus; *Aspergillus niger* greift Narkotin und Kodein an, liefert dagegen Morphin unverändert, während der auf levantischem Opium gefundene *Aspergillus Ostianus* auch dieses Alkaloid, obwohl nur sehr unbedeutend, zu zerstören scheint.

Die Schimmelbildung, welche man in Apotheken und Drogenhandlungen an unzweckmäßig aufbewahrtem Opium zuweilen beobachtet, kann somit für den Alkaloidgehalt kaum eine praktische Bedeutung haben. Der Feuchtigkeitsgrad ist nämlich nicht für das Wachstum des Pilzes so günstig, daß die Alkaloide in erwähnenswerter Menge vernichtet werden können.

Stockholm, Oktober 1914.
