

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.
Vorstand: Prof. Dr. *Hans Lieb.*)

Biogene Amine bei toxikologischen Untersuchungen*.

Von

Dr. A. Verdino,

Assistent am Institut.

Jedem Gerichtschemiker sind die Schwierigkeiten bei der Isolierung von Pflanzengiften oder von synthetisch-organischen Giftstoffen aus Leichenteilen bekannt. Der Nachweis und die quantitative Bestimmung dieser Gruppe von Giften ist deshalb besonders schwierig, weil einerseits fast immer nur kleine Substanzmengen — es handelt sich mitunter um wenige Centi- oder Milligramme — in einer sehr beträchtlichen Masse von Organsubstanz, die hauptsächlich aus Fett- und Eiweißkörpern besteht, verteilt sind. Andererseits erschweren sehr häufig Fäulnisprodukte, Ptomaine, den Nachweis, da sie Alkaloide oder synthetisch-organische Arzneistoffe vortäuschen können oder auch die krystallinische Abscheidung der Giftstoffe verhindern. Meistens ist ihre Menge sehr gering, so daß außer der Feststellung, daß es sich nicht um einen Giftstoff handelt, eine Identifizierung nicht möglich ist, aber immer erschwert das Auftreten einer auch noch so kleinen Menge von Ptomainen die Reindarstellung und Identifizierung von organischen Giftstoffen.

Zur Isolierung von organischen Giftstoffen sind verschiedene, seit langem in der forensischen Chemie eingeführte Methoden üblich. Am häufigsten wird das Verfahren von *Stas-Otto*, das fast immer zum Ziele führt, ferner die Methode von *Dragendorff* und die von *Kippenberger* angewendet. In neuerer Zeit wurden auch abgeänderte oder andere Isolierungsmethoden vorgeschlagen.

*G. Florence*¹ will den langen Weg, der zur Isolierung von Giftstoffen nach *Stas-Otto* gegangen werden muß, abkürzen, die Verwendung des Alkohols erübrigen und die gleichzeitige Isolierung von Ptomainen und biogenen Aminen vermeiden. Im Verfahren von *Dragendorff*, bei dem in schwefelsaurer Lösung am Wasserbad gearbeitet werden muß, bemängelt er, daß einige Alkaloide bei dieser energischen Behandlung abgebaut oder auch ganz zerstört werden können und dadurch dem Nachweis entgehen können. Um diese Nachteile zu umgehen, führt er Amine und Alkaloide in Trichloracetate über und isoliert sie über diese Salze. In seiner Abhandlung beschreibt er die Isolierung des Anilins, Toluidins, Strychnins, Bruzins, Morphins, Codeins, Chinins, Chinidins, Cocains, Nicotins, Atropins und Cinchonins. Allerdings stehen der Anwendung des Verfahrens von

* Diese Arbeit ist Herrn Prof. Dr. *F. Reuter* zum 60. Geburtstag gewidmet.

Florence auch wieder manche Nachteile gegenüber, unter anderem die schwere Ausschüttelbarkeit der mit Trichloressigsäure enteiweißten Lösung, die infolge von Emulsionsbildung viele Tage dauern kann. Auch *N. J. Joanić*² bestreitet die Vorteile der Methode von *Florence*.

Ferner veröffentlichte *Jorge Magnin*³ ein Methode, in welcher er durch Fällung einer Organflüssigkeit, die mit Schwefelsäure im Verhältnis 5:1 angesäuert ist, mit einem Überschuß von Bleichlorid die meisten Begleitstoffe entfernt. Nach Filtration dient diese Lösung dem Ausschüttelungsverfahren nach *Stas-Otto* oder nach *Dragendorff*.

Auch *Juan Antonio Pinto*⁴ beschrieb ein Verfahren, in welchem er die schwefelsaure Organflüssigkeit, die auch Essigsäure enthält, mit alkalischer Zinnchlorürlösung fällt und das Filtrat nach einem der bereits bekannten Verfahren ausschüttelt.

Schließlich beschrift *O. Schmidt*⁵ durch ein Gefrierverfahren einen neuen Weg zur Isolierung von Giftstoffen aus Leichenteilen. Er setzt die Organe durch ein bis zwei Tage einer Temperatur von -10 bis -15° aus. Nach dem langsamen Auftauen sind alle Giftstoffe in der sich ansammelnden Flüssigkeit fast quantitativ enthalten und können aus ihr durch Ausschüttelung gewonnen werden.

Die oben erwähnten neueren Methoden bieten wohl in mancher Hinsicht kleine Vorteile gegenüber den alten klassischen Methoden der forensischen Chemie, doch ist es anscheinend bis jetzt noch nicht gelungen, an Stelle der Methoden von *Stas-Otto*, *Dragendorff* oder *Kippenberger* ein leistungsfähigeres Verfahren zu setzen. In unserem Institute wird fast ausschließlich das Verfahren von *Stas-Otto* angewendet, da dabei ohne energischere und tiefer eingreifende Reaktionen alle Gruppen der Alkaloide oder synthetisch-organischen Giftstoffe erfaßt werden können. Nur in Fällen von besonderer Fragestellung wird dieses Verfahren modifiziert und gelegentlich ein einfacherer Weg eingehalten.

Wie *Florence* betont, ist ein Nachteil des Verfahrens von *Stas-Otto* die Mitführung von biogenen Aminen im Ausschüttelungsverfahren. Häufig traten bei toxikologischen Untersuchungen in unserem Institut kleine Mengen an biogenen Aminen auf, doch reichte in keinem der bisher bearbeiteten Fälle die Menge dieser isolierten Krystalle aus, um die organischen Substanzen zu identifizieren. Erst bei einer der letzten gerichtlichen Untersuchungen gelang es, größere Mengen von Ptoaminen zu erhalten.

Die Leichenteile stammten von einem ungefähr 60jährigen Manne und waren bereits 3 Monate im Erdgrabe. Der gerichtliche Auftrag verlangte eine Untersuchung auf alle Giftgruppen. Die Anwesenheit von flüchtigen Giftstoffen, von Metallgiften und von Alkaloiden oder synthetisch-organischen Giften konnte mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Bei dem Arbeitsgang nach *Stas-Otto* wurden 1350 g Magen und Darm samt Inhalt, sowie Leber, Niere, Milz, Lunge, Harn und 400 g Blut verarbeitet. Nach der Entfernung von Eiweiß und Fett wurde die schließlich erhaltene wässrige Lösung sauer und alkalisch mit Äther und hierauf bicarbonat-alkalisch mit Chloroform-Alkohol ausgeschüttelt. Die erste Ausschüttelung war frei von krystallisierenden Rückständen, während die beiden alkalischen Ausschüttelungen größere Mengen von krystallisierten Körpern aufwiesen.

Die Menge dieses Rückstandes betrug in der alkalischen Ätherausschüttelung 220 mg. Nach dem Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol konnte eine in Nadeln krystallisierende, organische Substanz vom Schmelzpunkt 270° erhalten werden, die sublimierbar war und Chlor enthielt. Da ihre wässrige Lösung mit Silbernitrat und Salpetersäure einen weißen, käsigen Niederschlag gab, der in Ammoniak löslich war, konnte daraus geschlossen werden, daß ein Chlorhydrat einer Base vorlag. Die Nadeln waren leicht löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Benzol, Aceton, Chloroform und Essigester. Bei der Mikro-Elementaranalyse nach Pregl wurden folgende Werte erhalten:

3,845 mg Subst.: 7,83 mg CO_2 , 2,42 mg H_2O .
 4,271 „ „ : (22° , 725 mm), 0,320 ccm N.
 4,111 „ „ : 3,40 mg AgCl.

$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{ONCl}$: Ber.: C 55,30, H 6,97, N 8,07, Cl 20,43%.
 Gef.: C 55,54, H 7,04, N 8,27, Cl 20,46%.

Aus den gefundenen Analysendaten ließ sich eine Summenformel von $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{ONCl}$ oder ein vielfaches davon berechnen. Der Schmelzpunkt des Chlorhydrates und die Analysenergebnisse deuteten auf *Tyramin-chlorhydrat* hin. Zur vollkommenen Sicherstellung wurde auch das Pikrat des p-Oxy-phenyl-äthylamins dargestellt.

18 mg Tyramin-hydrochlorid wurden in 1 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH gelöst und mit 20 mg krystallisierter Pikrinsäure versetzt, auf dem Wasserbade kurz erhitzt. In der Kälte fielen gelbe Prismen vom Schmelzpunkt 200° aus. Die Stickstoffbestimmung ergab:

3,674 mg Subst.: (22° , 736 mm), 0,497 ccm N.
 $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_4$: Ber.: N 15,31%,
 Gef.: N 15,16%.

Damit war der Nachweis erbracht, daß das aus den Leichenteilen isolierte Amin mit *Tyramin* (p-Oxy-phenyl-äthylamin) identisch ist.

L. van Itallie und *A. J. Steenhauer*⁶ beschrieben bereits 2 Fälle, in welchen sie aus Leichenteilen bei toxikologischen Untersuchungen Tyramin isolieren konnten. Sie erhielten es aus der Natronlauge-alkalischen und aus der Ammoniak-alkalischen Fraktion mit Äther. Die Anwesenheit von Tyramin in Leichenteilen ist ohne weiteres erklärbar, denn aus dem Tyrosin der Eiweißkörper entsteht durch Decarboxylierung Tyramin, insbesondere durch die Wirkung von *Bacterium coli*, wie es *Georg Roske*⁷, *Milton T. Hanke* und *Karl Koessler*⁸ und von *Clostridium sporogenes* oder *Clostridium histolyticum*, wie es *M. W. Mead jr.* und *C. G. King*⁹ beschrieben haben. Auch bei Fäulnis von Bierhefe entsteht nach *Kôtarô Nishida*¹⁰ Tyramin neben einer großen Anzahl von anderen Aminen.

Bei der Untersuchung dieser Leichenteile traten, wie schon erwähnt, auch in der bicarbonat-alkalischen Ausschüttlung (3. Ausschüttlung) größere Mengen von Krystallen im Gewichte von 120 mg auf. Nach Sublimation unter gewöhnlichem Druck konnten Nadeln von dem nicht sehr scharfen Schmelzpunkt 183° erhalten werden. Die Krystalle waren leicht löslich in Wasser und Alkohol, wenig löslich in Aceton und un-

löslich in Äther. Es lag auch hier das Chlorhydrat einer Base vor. Die Elementaranalyse brachte folgende Ergebnisse:

1,964 mg Subst.: 3,20 mg CO₂, 1,28 mg H₂O, C 44,44%, H 7,29%.
3,275 mg Subst.: (23°, 730 mm), 0,314 ccm N, N 10,62%.

Chlorbestimmung durch Fällung der wässrigen Lösung mit Silbernitrat und Salpetersäure:

2,047 mg Subst.: 2,10 mg AgCl, Cl 25,97%.

Chlorbestimmung durch Verbrennung im Perlenrohr nach Pregl:

3,014 mg Subst.: 3,15 mg AgCl, Cl 25,85%.

Auf Grund dieser Analysenergebnisse errechnet sich eine Summenformel von C₅H₁₀ONCl oder ein vielfaches davon.

C₅H₁₀ONCl: Ber.: C 44,25, H 7,43, N 10,33, Cl 26,15%.
Gef.: C 44,44, H 7,29, N 10,62, Cl 25,97, 25,85%.

Zur weiteren Identifizierung wurde die Herstellung der freien Base versucht; es ließ sich ein Öl, das sich im Verlauf einiger Wochen verflüchtigte, herstellen. Es gelang aber nicht, das Öl zu reinigen und analysenrein herzustellen und dessen physikalische Konstanten zu bestimmen. Ebenso mißlangen die Versuche, das Pikrat, das Pikronolat, das Styphnat oder das Platinsalz herzustellen, während das Goldsalz erfaßbar war.

20 mg des Hydrochlorids wurden in 2 Tropfen Wasser gelöst und mit 2 Tropfen Goldchloridlösung versetzt; beim langsamen Abdunsten fielen rotbraune, quadratische Blättchen und gefiederte Nadeln aus, die nach Absaugen, Waschen und Trocknen einen scharfen Schmelzpunkt von 105—106° hatten. Die Analyse des Goldsalzes zeitigte folgende Resultate:

1,100 mg Subst.: 1,08 mg AgCl, 0,374 mg Au, Cl 24,29%, Au 34,00%.

Auf Grund dieser Analyse scheint das Goldsalz aus dem Körper C₁₀H₁₈O₂N₂ mit einem Molekül AuCl₃, einem Molekül HCl und zwei Molekülen Wasser zu bestehen.

C₁₀H₁₈O₂N₂Cl₄Au: Ber.: Cl 24,70, Au 34,34%,
Gef.: Cl 24,29, Au 34,00%.

Mit keiner der bisher in der Literatur beschriebenen organischen Substanzen stimmt das gefundene Hydrochlorid überein. Die weitere Untersuchung der isolierten Substanz mußte wegen Mangel an Untersuchungsobjekt eingestellt werden, da ja im ganzen nur 120 mg Hydrochlorid zur Verfügung standen.

Zusammenfassung.

Aus 1750 g Magen und Darm samt Inhalt, sowie Leber, Niere, Milz, Lunge, Harn und Blut konnten in der alkalischen Ätherausschütt-

lung nach *Stas-Otto* 220 mg Tyramin-hydrochlorid (p-Oxy-phenyl-äthylamin-chlorhydrat) gefunden werden. In der bicarbonat-alkalischen Ausschüttlung konnten 120 mg eines Hydrochlorides einer Base mit der wahrscheinlichen Summenformel $C_{10}H_{18}O_2N_2$ gefunden werden.

Literaturverzeichnis.

¹ Bull. Soc. Chim. France **41**, 1097 (1927). — ² Bull. Soc. Chim. biol. Paris **12**, 1001 (1930); ref. Chem. Zbl. **1930 II**, 2927. — ³ An. Asoc. Quim. Argentina **14**, 170 (1926); ref. Chem. Zbl. **1927 I**, 499. — ⁴ An. Asoc. Quim. Argentina **20**, 168 (1932); ref. Chem. Zbl. **1933 I**, 2727. — ⁵ Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, 260 (1933). — ⁶ Pharm. Weekblad **62**, 446 (1925); ref. Chem. Zbl. **1925 II**, 226. — J. Pharmacie **1**, 832 (1925); ref. Chem. Zbl. **1925 II**, 1456. — ⁷ Jb. Kinderheilk. **120**, 186 (1929); ref. Chem. Zbl. **1929 I**, 2435. — ⁸ J. of biol. Chem. **59**, 835 u. 855 (1924); ref. Chem. Zbl. **1924 II**, 361. — ⁹ J. Bacter. **17**, 151 (1929); ref. Chem. Zbl. **1931 I**, 2217. — ¹⁰ Bull. chem. Soc. Japan **8**, 14 (1933); ref. Chem. Zbl. **1933 I**, 3508.
