

Aus der Medizinischen Poliklinik Marburg (Direktor: Prof. Dr. KLEWITZ).

## Ein Beitrag zum Nachweis von Aloe in Harn und Faeces.

Von

HANS und GISELA FRIEBEL.

(Eingegangen am 30. Juni 1949.)

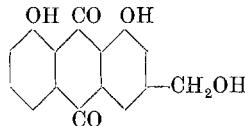
Unter den anthrachinonhaltigen Abführmitteln nimmt die Aloe eine Sonderstellung ein. Sie wird zum Unterschied von sonstigen anthrachinonhaltigen Abführmitteln auch als Emenagogum und in stärkerer Dosierung als Abtreibungsmittel verwandt. Sie teilt auch nicht den Ruf der Harmlosigkeit mit den übrigen Drogen, sondern kann bei Überdosierung Nierenschädigungen verursachen, die infolge von Urämie zum Tode führen können.

Vergiftungen, die nach Gebrauch der Aloe als Abführmittel auftreten, sind sehr selten und für den Gerichtsmediziner ohne wesentliche Bedeutung. Aber beim medikamentös eingeleiteten Abort wird man dieser Droge recht häufig begegnen, wenn man nur sucht und dabei empfindliche Nachweismethoden anwendet. Der emenagoge Gebrauch der Aloe ist Ärzten heutzutage weniger bekannt als vor 150 Jahren. In der Volksheilkunde jedoch kennt man diese Eigenschaft der Aloe heute noch gut. Ebenso sorgt eine rührige pharmazeutische Fabrikation in Form von Geheimmitteln (z. B. „Damendragées“) dafür, daß die Aloewirkung auf den Uterus zur Anwendung gelangt. Selbst die als harmlos geltenden Abführmittel Leopollen und Daluwalkompretten sind, wie die Erfahrung praktischer Apotheker lehrt, wegen ihres Aloehaltes als wehenerregend bekannt und werden von Schwangeren in mehr oder weniger verhüllter Absicht gekauft. Kein Rezeptzwang setzt diesem Mißbrauch der Aloe Grenzen. Nur in seltenen Fällen wird er erkannt werden, da geeignete Nachweismethoden sehr wenig bekannt sind (Literaturnachweis: 1—17).

Wir haben uns daher die Aufgabe gestellt, einen empfindlichen und einfachen Nachweis zu entwickeln, mit dem Aloegebrauch im Harn und den Faeces erkannt werden kann.

Natürlich wird man Aloe, ein komplexes pflanzliches Produkt, nicht mit einer einzigen chemischen oder biologischen Probe identifizieren können. Man wird bestenfalls einzelne für Aloe typische und konstant in ihr vorkommende Inhaltsstoffe zum Nachweis heranziehen können. Doch stößt auch dieser Versuch auf erhebliche Schwierigkeiten. Die Droge wird aus verschiedenen Arten der Gattung Aloe gewonnen, enthält also kein einheitliches Ausgangsmaterial. Außerdem wird von den

Eingeborenen ihrer Herkunftsländer eine rohe Bearbeitung durch langdauerndes Erhitzen des Pflanzensaftes vorgenommen, die bei den empfindlichen Inhaltsstoffen der Pflanzenzellen zu recht verschiedenartigen Umwandlungen führen muß<sup>2, 18</sup>. Wenn unsere Kenntnisse von der Chemie der Drogeninhaltsstoffe auch recht lückenhaft sind, so wissen wir doch, daß die Wirkstoffe Glykoside von reduzierenden Anthracenabkömmlingen sind<sup>19</sup>. Haben diese Wirkstoffe bei der Gewinnung der Droge die schützende Pflanzenzelle einmal verlassen, so werden sie unter dem Einfluß von Enzymen und Hitze so lange gespalten und oxydiert werden, bis die Konservierung der Droge in Form ihres Trockenpräparates gelungen ist. In diesem Augenblick aber dürfte ein jeweils verschiedenartiges Gemisch differenter Abbauprodukte des Ausgangsmaterials vorliegen, das kaum geeignet ist, einen verhältnismäßig stabilen typischen Inhaltsstoff in größerer Menge für den Nachweis zu liefern. Ein derartiges Produkt wird sich erst dann ergeben, wenn man den Abbau künstlich bis zu einer Stufe weitertreibt, in der der fließende Abbau der Wirkstoffe zu einem einheitlichen Endprodukt geführt hat. Ein hierfür in Frage kommender Stoff ist das Aloeanthrachinon oder Aloeemodin. Seine Konstitution wurde durch LÉGER und OESTERLE aufgeklärt<sup>19</sup>



Aloeemodin (Dioxyanthrachinonylcarbinol).

Nach dem Vorhergehenden ist es verständlich, daß der Emodinnachweis in gelöster Aloe mißlingen kann, wenn freies Emodin zunächst gar nicht vorliegt. Selbst nach der Körperpassage kann der Anteil freien Emodins im Harn noch mengenmäßig zu gering sein. Wir haben uns daher zunächst bemüht, auf möglichst einfache Weise eine Emodinamreicherung herbeizuführen. Bei der Droge konnten wir die Oxydation der reduzierenden Körper und die Spaltung ihrer Glykosidbindung in einem Arbeitsgang durch Kochen mit Säure und  $H_2O_2$  erreichen. Anders beim Harn. Hier war die Oxydation überflüssig, ja, sie führte zu Emodinverlusten. Notwendig aber war die Säurespaltung. Das unterschiedliche Verhalten von Droge und Harn erklärt sich aus der Fähigkeit der körpereigenen Fermente, während der Körperpassage die Aloewirkstoffe zu oxydieren. Gleichzeitig darf man aus dem Emodinverlust schließen, daß bei der künstlichen Oxydation mit  $H_2O_2$  nicht nur reduzierende Aloewirkstoffe zu Emodinen umgewandelt werden, sondern daß die Oxydation darüber hinaus unter Zerstörung von gebildetem Emodin weitergeht. Man wird daher bei dieser Arbeitsweise nicht die theoretisch größtmögliche Emodinausbeute erhalten können. Für unsere

Zwecke genügte es, empirisch für Drogen und aloehaltigen Harn getrennt jeweils zweckmäßige Arbeitsmethoden zu ermitteln, die gute Emodin-ausbeuten ergeben.

Bei der Emodinanreicherung dunkeln die Kochansätze erheblich. Irgendwelche Farbreaktionen lassen sich in ihnen nicht mehr ausführen. Soll ein Mikronachweis von Aloëmodin möglich werden, so muß das Anthrachinon zunächst aus dem Kochansatz isoliert werden. Eine grobe Abtrennung von den dunklen Farbstoffen gelingt schon durch eine Benzol-extraktion und anschließende Überführung des darin gelösten Anthrachinons in Natronlauge. Zum Mikronachweis reicht diese Bearbeitung noch nicht aus. Harnfarbstoffe haben zum Teil ähnliche Löslichkeitsbedingungen wie Emodine und werden bei der Extraktion mitgeschleppt. Wir benötigten ein besseres Verfahren, mit dem Anthrachinone selektiv isoliert werden können. Diese Möglichkeit fand der Eine von uns, als er nach einem Mikronachweis für das Dioxyanthrachinon (Istizin) suchte<sup>20</sup>. Es handelt sich dabei um die Ausfällung des in alkalischem Milieu gelösten Anthrachinons als Magnesiumkomplexsalz. Diese Verbindung läßt sich durch Zentrifugieren ziemlich rein erhalten. Gleichzeitig wird aber auch der Anthrachinonnachweis geführt, denn das Magnesiumkomplexsalz ist eine stark gefärbte Substanz, die Aloëmodin mit leuchtend violetter Farbe kenntlich macht. Ein chemisch nahe verwandtes Emodin, das aus dem Rhabarber gewonnen wird, die Chrysophansäure<sup>18</sup>, gibt ein ähnlich gefärbtes Komplexsalz. Wir konnten noch 0,1 γ Chrysophansäure als violetten Farbstoff sichtbar machen. Das Magnesiumsalz des Aloëmodins dürfte kaum weniger farbstark reagieren. Die große Empfindlichkeit dieser Nachweismethode wird von keiner anderen bisher bekannten Arbeitsweise erreicht<sup>18-25</sup>. Ihre Einführung zum Auffinden von Aloe bedeutet daher einen wesentlichen Fortschritt.

Technisch wird so verfahren, daß der saure Kochansatz nach der Emodinanreicherung alkalisch gemacht wird. Dann setzt man Magnesiumsulfat zu und zentrifugiert. Das ausfallende Magnesiumhydroxyd, das den Magnesium-Anthrachinonkomplex einschließt, liegt nun ziemlich rein vor, wenn Aloëdroge aufgearbeitet wird. Eine Verbesserung der Ergebnisse läßt sich dadurch erreichen, daß man anschließend den vom Überstehenden abgetrennten Bodensatz in wenig Salzsäure löst. Hierbei zerfällt das Komplexsalz und verliert seine Farbe. Gibt man nun so viel Lauge zu, daß Magnesium erneut ausflockt, so kann man ohne Anthrachinonverlust das Komplexsalz von der Lösung noch einmal abtrennen und diesen Reinigungsprozeß fortsetzen, bis alle mitgerissenen Fremdfarbstoffe ausgewaschen sind. Im Harn fallen bei dieser Arbeitsweise zugleich mit dem Magnesiumhydroxyd auch Phosphate und Carbonate aus. Von ihnen kann man das Emodin leicht abtrennen, wenn man nach

der ersten Magnesiumfällung den Bodensatz in Säure löst und diese Lösung mit Benzol extrahiert. Handelt es sich dabei um größere Emodinmengen, so lassen sie sich nach der anschließenden Überführung in Natronlauge im Stufenphotometer quantitativ bestimmen, denn Aloe-anthrachinon löst sich in Lauge klar mit roter Farbe. Im einzelnen bewährte sich zum Nachweis von Aloemodin folgender Arbeitsgang:

*a) Aloehaltiges Drogenmaterial.*

1. Lösen oder Aufschütteln von 10—100 mg Droge in 25 cm<sup>3</sup> Wasser. Versetzen mit je 1 cm<sup>3</sup> 25%iger HCl und 30%igem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 10 min langes Sieden in einem Kochkörbchen (100 cm<sup>3</sup>) mit 150 cm langem Steigrohr. Abkühlen. Durchschütteln mit einer annähernd gleich großen Benzolmenge im Scheidetrichter. Abtrennen der wäßrigen Phase und Überführen des Benzols in einen anderen Scheidetrichter, der 5 cm<sup>3</sup> n/3 NaOH enthält. Wenn die Lauge beim Schütteln mit dem Benzol eine rotviolette Farbe annimmt, ist Emodin nachgewiesen.

2. Bleibt die Lauge farblos oder tritt nur eine gelbliche Verfärbung ein, so trennt man die alkalische Flüssigkeit vom Benzol und versetzt sie mit 1 cm<sup>3</sup> Magnesiumsulfatlösung 1: 100 in einem Zentrifugiergläschen. Durchschütteln, zentrifugieren. Abgießen der überstehenden Flüssigkeit. Lösung des Bodensatzes in 1 cm<sup>3</sup> Normalsalzsäure. Auffüllen mit Normalnatronlauge auf 5 cm<sup>3</sup>. Durchschütteln. Erneutes Zentrifugieren. Rotviolett- oder Violettfärbung des Niederschlags zeigt Emodin an. Sollte auch dieser Niederschlag noch mißfarbig sein, kann er durch erneutes Lösen und Ausfällen weiter gereinigt werden.

*b) Emodinhaltiger Harn.*

Versetzen von 50 cm<sup>3</sup> Harn mit 10 cm<sup>3</sup> 25%iger HCl. 10 min langes Sieden und weitere Behandlung bei a 1.

*c) Emodinhaltige Faeces.*

Verreiben von 50 g Faeces mit 50 cm<sup>3</sup> Methylalkohol. Scharfes Zentrifugieren. Die überstehende Flüssigkeit wird wie Harn bearbeitet.

Diese Arbeitsmethoden erprobten wir im Selbstversuch. Zwei gesunde erwachsene Personen nahmen 0,3 g Aloe in Pulverform abends ein. Bereits nach 2½ Std fanden sich erste Emodinanteile im Harn. Ungefähr nach 9½ Std erhielten wir die stärkste Emodinausscheidung, soweit bei den kleinen ausgeschiedenen Mengen eine quantitative Beurteilung möglich ist. Spuren von Emodin fanden sich noch nach 38 Std.

Bei einem erneuten Versuch wurde die gleiche Aloemenge mit frischem Brot zu Pillen verarbeitet. Die Pillen wurden im Anschluß an die Abendmahlzeit eingenommen. Bei den gleichen Versuchspersonen ergab sich

noch nach 48 bzw. 60 Std eine eben noch nachweisbare Emodinausscheidung.

Nach Einnehmen von 2 Dragées eines handelsüblichen Abführmittels (Daluwalkompretten), das neben Extr. Aloes auch Extr. Rhei. comp. und Extr. Cascara sagr. als emodinhaltige Komponenten enthält, fanden wir Emodin noch nach 41 bzw. 42 Std. Hierbei befanden sich neben Aloeemodin auch die gleichgefärbten Oxymethylanthrachinone des Rhabarbers und der Rhamnus purshiana im Magnesiumniederschlag<sup>18</sup>.

In keinem Falle konnten wir im Stuhl Emodin länger nachweisen als im Harn. Im übrigen ist die Bearbeitung der Faeces infolge des Fettgehaltes schwieriger.

Es ist demnach möglich, Aloeemodin im Harn über viele Stunden nachzuweisen, wenn die eingenommenen Dosen noch im Bereich der therapeutischen Norm liegen und nicht mehr als eine gewöhnliche Abführwirkung hervorrufen. Große Gaben, wie sie zur Hyperämieerzeugung und zur Auslösung einer Uteruskontraktion notwendig sind, werden eine verlängerte Ausscheidung zur Folge haben. Bei einem Anthrachinonnachweis mit den bisher bekannten Methoden, z. B. der BORNTRÄGERSchen Reaktion<sup>21</sup>, sinkt der Emodinspiegel im Harn nach therapeutischen Dosen sehr bald unter das hiermit erfaßbare Niveau ab. Unsere Mikromethode ermöglicht durch die leichte und gründliche Abtrennung unerwünschter Begleitstoffe und durch größere Empfindlichkeit den Nachweis über eine wesentlich längere Zeitspanne.

Für die Beurteilung des Analysenergebnisses ist von Wichtigkeit, daß Aloe- und Sennesemodine, die chemisch identisch sind<sup>26</sup>, auch in Form ihrer Magnesiumkomplexsalze nicht unterschieden werden können. Andere verwandte pflanzliche Emodine aus Rhamnus- und Rheumarten geben ebenfalls farbgleiche Salze. Der Nachweis des Emodins berechtigt daher nicht ohne weiteres zu der Annahme, daß Aloegebrauch bewiesen sei. Hierzu müssen weitere Beweismittel vorliegen.

### *Zusammenfassung.*

Es wird ein mikrochemischer Nachweis von Anthrachinonderivaten beschrieben, der sich zum gerichtsmedizinischen Nachweis kleinstcr Aloemengen im Harn verwenden läßt.

### **Literatur.**

- <sup>1</sup> SCHIFF: Ref. Z. gerichtl. Med. **16**, 325 (1931). — <sup>2</sup> MADAUS: Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Bd. I, S. 484. Leipzig: Georg Thieme 1938. — <sup>3</sup> GREEN: Ref. Chem. Zbl. **1942 I**, 2423. — <sup>4</sup> SCHOLDERER: Med. Klin. **1939 II**, 1128. — <sup>5</sup> Reallexikon der gesamten theoretischen und praktischen Homöopathie, Bd. I, S. 78. Leipzig: Schumann 1835. — <sup>6</sup> LEWIN: Lehrbuch der Toxikologie, S. 875. Berlin: Stilke 1929. — <sup>7</sup> STARKENSTEIN, ROST u. POHL: Toxikologie, S. 118, 361. Wien u. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1929. — <sup>8</sup> FLURY u. ZANGGER:

Lehrbuch der Toxikologie, S. 40. Berlin: Springer 1928. — <sup>9</sup> TARSITANO: Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **36**, 419 (1942). — <sup>10</sup> FLAMM-KROEGER: Rezeptbuch der Pflanzenheilkunde, S. 174. Stuttgart: Hippokrates 1934. — <sup>11</sup> EICHLER u. VOLLMER: Slg Vergift.fälle **7**, 23 (1936). — <sup>12</sup> CONRADI: Grundriß der Pathologie und Therapie, Bd. 2, S. 336. Marburg: Krieger 1816. — <sup>13</sup> RAIMANN, v.: Handbuch der spezifischen medizinischen Pathologie und Therapie, Bd. 2, S. 405. Stuttgart: Wolters 1832. — <sup>14</sup> RICHTER: Die chronischen Krankheiten, 1. Abt., Bd. 3, S. 525. Nikolai 1817. — <sup>15</sup> CULLEN: Anfangsgründe der praktischen Arzneykunst, Bd. 2, S. 527. Leipzig: Fritsch 1800. — <sup>16</sup> HOVORKA, v., u. KRONFELD: Vergleichende Volksmedizin, S. 164. Stuttgart: Streckner & Schröder 1908. — <sup>17</sup> DIERKES: Beitr. gerichtl. Med. **16**, 8 (1942). — <sup>18</sup> FISCHER: Prakticum der Pharmakognosie, S. 231, 290. Berlin: Springer 1944. — <sup>19</sup> HOUBEN: Das Anthracen und die Anthrachinone. Leipzig: Georg Thieme 1929. — <sup>20</sup> FRIEBEL, H.: Unveröffentlichte Versuche zum Istizinnachweis. — <sup>21</sup> HEFFTER-HEUBNER: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. II/2, S. 1599. Berlin: Springer. — <sup>22</sup> HIEKE: Bot. Archiv **41**, 113 (1940). — <sup>23</sup> STRAUB u. GEBHARDT: Arch. f. exper. Path. **181**, 399 (1936). — <sup>24</sup> LODI: Ref. Ber. Physiol. **133/134**, 177. — <sup>25</sup> HAUSER: Helvet. chim. Acta **6**, 79 (1921). — <sup>26</sup> STRAUB u. TRIENDL: Arch. f. exper. Path. **185**, 1 (1937).

Dr. HANS FRIEBEL, (16) Marburg a. d. Lahn, Dürerstr. 35.