IX.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. B. Pharmakologische Untersuchungen über das Colchicin und seine Derivate.

Von

Hermann Fühner.

(Mit 4 Kurven.)

Es steht heute wohl unzweifelhaft fest, daß die Herbstzeitlose und ihr wirksamer Bestandteil, das Colchicin, imstande sind, den akuten Gichtanfall günstig zu beeinflussen. Worauf aber diese Wirkung des Colchicins beruht, ob sie eine rein nervöse ist, ob die abführende oder die cholagoge Wirkung dabei eine Rolle spielen oder ob in erster Linie eine Beeinflussung des Stoffwechsels in Betracht kommt, wissen wir nicht. Als ein Weg, hier weiter in der Erkenntnis vorzudringen, erscheint es mir, Derivate des Colchicins klinisch zu prüfen, denen eine oder die andere Wirkung der Muttersubstanz fehlt.

Colchicinderivate, welche dem Colchicin chemisch noch sehr nahe stehen, dabei aber viel weniger giftig sind, kennen wir schon seit langer Zeit durch die chemischen und pharmakologischen Untersuchungen von Zeisel¹⁾ und Paschkis²⁾. Daß diese Produkte klinisch geprüft wurden, ist mir nicht bekannt. Vielleicht veranlaßt nachstehende Publikation eine klinische Untersuchung nicht nur der älteren, sondern auch einiger von Windaus³⁾ neu dargestellter Col-

1) S. Zeisel, Über das Colchicin. Wiener Monatshefte für Chemie Bd. 4, S. 162 (1883), Bd. 7, S. 557 (1886) und Bd. 9, S. 1 und 865 (1888).

2) H. Paschkis, Pharmakologische Untersuchungen über das Colchicin. Wiener medicin. Jahrbücher 1883, S. 257 und Jahrgang 1888, S. 569.

3) A. Windaus, Untersuchungen über Colchicin. I. und II. Sitzungsber. der Heidelberger Akademie der Wissenschaften. Mathemat.-naturw. Klasse. Jahrg. 1910, 2. Abhandlung und Jahrg. 1911, 2. Abhandlung.

chicinabkömmlinge, über die ich orientierende Tierversuche angestellt habe. Genauer prüfte ich bisher nur das schon vor langer Zeit von Zeisel¹⁾ durch Oxydation des Colchicins mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure erhaltene Oxycolchicin, welches wegen seiner Beziehungen zum Oxydicolchicin Jacobys pharmakologisch weitgehendes Interesse besitzt. Dieses Produkt, wie auch die andern zu erwähnenden Colchicinderivate verdanke ich meinem Kollegen Windaus.

Durch die früheren Untersuchungen von Zeisel, namentlich aber durch z. T. noch nicht publizierte Arbeiten von Windaus ist die chemische Konstitution des Colchicins fast restlos aufgeklärt. Nach Windaus ist die wahrscheinlichste Formel für das Colchicin ($C_{22}H_{25}O_6N$) die folgende:

Das Colchicin enthält einen teilweise reduzierten Naphtalinring mit einer azetylierten primären Aminogruppe und drei einander benachbarten Methoxylgruppen. Außerdem ist eine vierte leicht verseifbare Enolmethoxylgruppe vorhanden. Bei der Verseifung dieser letzteren durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren spaltet sich Methylalkohol ab und es entsteht das Colchicëin, welches auf Grund der freien Hydroxylgruppe saure Eigenschaften besitzt und sich leicht in Alkalien, schwer in heißem Wasser löst, aus dem es sich beim Abkühlen kristallinisch abscheidet. Colchicëin zerfällt bei weiterem Erhitzen mit Säuren in Essigsäure und Trimethylcolchicinsäure. Durch Methylierung kann aus dieser Säure ein dem Colchicin wieder nächstehender Methyläther gewonnen werden, der weiterhin durch Benzoylierung ein Produkt liefert, welches

1) Privatmitteilung von Herrn Prof. Zeisel an Herrn Prof. Windaus.

sich vom Colchicin nur durch den Benzoylrest an Stelle des Azetylrestes unterscheidet. Neben diesen Produkten prüfte ich auch ein durch stärkere Oxydation mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung aus der N-benzoyltrimethylcolchicinsäure erhaltenes Derivat, das N-benzoylcolchinsäureanhydrid und endlich noch das durch Oxydation mit Chromsäure aus dem Colchicin entstehende Oxycolchicin.

Die folgenden Formelbilder veranschaulichen die Beziehungen der verschiedenen geprüften Substanzen zu einander:

Meine bisher an diesen Substanzen vorgenommenen Untersuchungen erstrecken sich in der Hauptsache auf die vergleichende Feststellung ihrer Giftigkeit gegenüber dem Colchicin. Eine spätere eingehendere Prüfung ist beabsichtigt.

Colchicin.

Nach den Untersuchungen von Jacobj¹⁾, welcher im Gegensatz zu früheren Autoren die Wirkung des chemisch reinen Colchicins prüfte, ist dasselbe für Frösche sehr wenig giftig. Dosen von 50 mg und darüber in frisch hergestellter Lösung Fröschen injiziert, lähmen diese zwar vorübergehend, aber nach einigen Stunden erholen sie sich wieder und bleiben nach Jacobj dauernd normal. Die Resistenz der Frösche reinem Colchicin gegenüber ist aber, wie ich neuerdings²⁾

1) C. Jacobj, Pharmakologische Untersuchung über das Colchicumgift. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol., Bd. 27, S. 129 (1890).

2) H. Fühner, Über den toxikologischen Nachweis des Colchicins. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol., Bd. 63, S. 365 (1910).

fand und wie Y. Sanno¹⁾ bestätigt hat, nur eine relative, vom Gesundheitszustand der Versuchstiere und namentlich von ihrer Temperatur abhängig. Schon bei sommerlicher Zimmertemperatur sterben Frösche nach genannten Dosen auch des reinsten Colchicins an zunehmender zentraler Lähmung, allerdings oft erst nach mehreren Wochen. Hingegen sind im Thermostaten bei etwa 30° gehaltene Wasserfrösche dem Gifte gegenüber so empfindlich, daß schon Bruchteile eines Milligramms im Verlaufe einiger Tage tödlich sind. Bemerkenswert für das reine Colchicin ist die Tatsache, daß es die von früheren Autoren an Fröschen beschriebenen Krämpfe nicht hervorbringt. Diese, sowie eine veratrinähnliche Muskelwirkung, sind nach Jacobj durch Verunreinigung der Präparate mit Oxydicolchicin bedingt, in welches die reine fast farblose Substanz beim Stehen an Luft und Licht allmählich unter Gelbfärbung übergeht.

Von höheren Wirbeltieren sind Katzen dem Gifte gegenüber am empfindlichsten. An solchen stellte ich in erster Linie meine vergleichenden Versuche mit den Derivaten an. Die tödliche Dose pro Kilo Katze ist bei subkutaner Applikation nach Jacobjs und meinen Beobachtungen 0,5—1 mg. Der Tod erfolgt bekanntlich unter Erscheinungen des Brechdurchfalls erst nach mehreren Stunden, und diese Latenzzeit kann auch durch sehr hohe Dosen nicht aufgehoben werden.

Kaninchen ertragen viel größere Colchicinnengen. Für mittelgroße Tiere gibt Jacobj als tödliche Dose bei subkutaner Applikation 7 mg an. Per os ertragen dieselben nach meinen Erfahrungen bedeutend mehr. Bei einem Tier von 1½ kg machte die mit der Schlundsonde in wässriger Lösung beigebrachte Menge von 30 mg kaum Darmerscheinungen; erst die Menge von 100 mg tötete dasselbe unter Erzeugung von Durchfällen.

Der Mensch soll per os Gaben bis zu 50 mg Colchicin ertragen können. Doch sind Vergiftungsfälle mit tödlichem Ausgang schon nach der Menge von 3 mg beobachtet worden. Die therapeutischen Dosen für das kristallisierte, d. h. 30% Kristallechloroform enthaltende Produkt betragen 1—3 mg. Vom amorphen Handelsprodukt sind die Dosen entsprechend zu verringern.

Colchicëin.

Das Colchicëin, welches an Stelle der leichtverseifbaren Methoxylgruppe des Colchicins eine freie Hydroxylgruppe besitzt, ist

1) Y. Sanno, Über den Einfluß der Temperatur auf die Giftempfindlichkeit des Frosches. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 65, S. 332 (1911).

nach der Untersuchung von Paschkis an Hunden bedeutend weniger giftig, als das Colchicin. Wegen der Schwerlöslichkeit des Produktes in Wasser verwandte ich zu meinen Versuchen verdünnte Sodalösung zur Auflösung. Nach Dosen von 10 mg sah ich an Wasserfröschen von 50 g keine Wirkung. Die Tiere blieben dauernd normal. Subkutane Injektion dieser Lösung in Mengen von 10—25 mg hatte an Katzen von etwa 2 kg keine Wirkung.

Trimethylcolchicinsäure.

Die Trimethylcolchicinsäure besitzt neben der freien Hydroxygruppe des Colchicëins eine freie Aminogruppe. Sie ist darum in Alkalien und Säuren löslich. Das Produkt wurde von dem früheren Untersucher Paschkis und mir als salzsaures Salz in wässriger Lösung verwandt. Paschkis bemerkt jedoch, daß die Substanz auch in schwach alkalischer Lösung dieselben Wirkungen besitzt, wie in der erstgenannten. Beim Frosche bewirkt das Präparat nach Paschkis zunächst Krämpfe und Muskelzuckungen, später teilweise zentrale Lähmung. Dosen von 10 mg haben ausgesprochene Herzwirkung: Man beobachtet Pulsverlangsamung und vorübergehende diastolische Stillstände. Dosen von 20 mg sind tödlich im Verlauf weniger Stunden, wobei das Herz diastolisch stillsteht. Auch an Hunden ist das Produkt nach diesem Autor viel giftiger, wie das Colchicëin, eine Beobachtung, welche ich an Katzen bestätigen kann. Die beim Colchicëin unwirksame Dose von 25 mg verursacht hier Brechdurchfall, von welchem sich die Tiere aber wieder erholen.

Trimethylcolchicinsäuremethyläther.

Es war zu erwarten, daß man durch Methylierung der Hydroxylgruppe der Trimethylcolchicinsäure wieder zu einem Produkte von erhöhter Giftigkeit gelangen werde, was in der Tat der Fall ist. Der Methyläther ist in Wasser schwer löslich und wurde deshalb unter Zusatz von etwas Alkohol in Lösung gebracht. Einer Katze von 2 kg wurde die für das Colchicin sicher tödliche Menge von 3 mg beigebracht. Nach einigen Stunden trat bei dem Tier Brechdurchfall auf, es erholte sich aber im Verlaufe der nächsten Tage wieder, und auch die später gegebene doppelte Dose von 6 mg erwies sich als nicht tödlich. Die tödliche Dose wurde nicht bestimmt, dürfte aber etwa 10 mg für Katzen von 2 kg Gewicht betragen. Die Giftigkeit dieses Produktes ist ungefähr fünfmal geringer, wie die des Colchi-

cins, was auffallend erscheint: Man sollte erwarten, daß dieser Substanz mit der freien Aminogruppe an Stelle der azetylierten Gruppe stärkere Giftwirkung zukommt. Die schwächere Wirkung hängt vielleicht mit der schlechteren Wasserlöslichkeit des Produktes zusammen.

N-benzoyltrimethylcolchicinsäuremethyläther.

Die freie Aminogruppe des vorhergehenden Produktes ist bei diesem benzoyliert. Dasselbe unterscheidet sich, wie schon oben erwähnt, vom Colchicin durch den Benzoylrest an Stelle des Azetylrestes. Durch die Benzoylierung ist die Giftigkeit des vorhergehenden Produktes in gesetzmäßiger Weise wieder verringert worden. 3 mg dieser Substanz, einer Katze von 2 kg in verdünnt-alkoholischer Lösung unter die Rückenhaut injiziert, zeigten keine Wirkung im Verlauf von vier Beobachtungstagen, hingegen bekam dasselbe Tier nach der Dose von 25 mg sechs Stunden nach der Injektion Brechdurchfall und war nach acht Stunden tot. Die Sektion ergab den für Colchicin charakteristischen Magen- und Darmbefund. Dieses Benzoylprodukt ist, nach dem Versuch an der Katze zu urteilen, etwa zehnmal weniger giftig als das Azetylprodukt, das Colchicin.

N-benzoylcolchinsäureanhydrid.

Nachdem sich das vorhergehende N-benzoylderivat des Colchicins als nicht ungiftig erwiesen hatte, erschien es von Interesse, ein anderes N-benzoylprodukt zu prüfen, welches durch Permanganat-oxydation weiter abgebaut ist, ein inneres Anhydrid zwischen einer Karboxyl- und einer Phenolhydroxylgruppe darstellt und noch den teilweise reduzierten Naphtalinring mit drei Methoxylgruppen enthält. Dieses Produkt besitzt, an Katzen geprüft, in großen Dosen noch die Magen-Darmwirkung des Colchicins, doch sind auch Dosen von 50 mg nicht tödlich. Auffällig ist nach subkutaner Injektion des mit Soda in Lösung gebrachten Produktes die sehr spät, manchmal erst nach 24 Stunden, auftretende Wirkung.

Oxycolchicin.

Durch Oxydation mit Chromsäure oder Kaliumbichromat und Schwefelsäure läßt sich aus dem Colchicin ein sehr beständiges gut kristallisierendes, fast farbloses Produkt, das Oxycolchicin, erhalten, in welchem in einer CH_2 -Gruppe des in der Formel gezeichneten

sauerstoffhaltigen Ringes der Wasserstoff durch Sauerstoff ersetzt ist. Das Produkt löst sich wenig in Wasser, besser in Alkohol. Zu den Versuchen wurde die alkoholische Lösung mit Wasser verdünnt.

Dieses Produkt ist für Frösche, im Gegensatz zum Colchicin auch in kleinen Dosen giftig und verursacht Krämpfe und Veränderung der Muskelzuckung ähnlich dem Oxydicolchicin Jacobjs.

Fig. 1. *Rana fusca*. (Warmfrosch). 5 mg Oxycolchicin. Versuch 6 Stunden nach Injektion. Zeit = Sekunden (23. II. 13).

Fig. 2. *Rana esculenta*. (Warmfrosch) 10 mg Oxycolchicin. Versuch 2 Stunden nach Injektion. Zeit = Sekunden (26. II. 13).

Dosen von $\frac{1}{2}$ mg bewirken an Wasserfröschen von 50 g Gewicht im Verlauf einer halben bis ganzen Stunde ausgesprochene Reflexsteigerung, Dosen von 2 mg aufwärts typischen Tetanus, wie das Strychnin. Hält man die Versuchstiere in etwas Wasser, so erholen sie sich nach ein bis zwei Tagen von den Krämpfen, die durch kleine Dosen hervorgebracht wurden. 5 mg sind für Wasserfrösche häufig schon tödlich, während sich die dem Gifte, wie dem Strychnin,

gegenüber etwas weniger empfindlichen Grasfrösche von dieser Menge regelmäßig erholen. Nach großen Dosen der Substanz folgt auf die zentrale Erregung zentrale und periphere Lähmung. Neben der zentral bedingten, anfangs oft an Pikrotoxin, später an Strychnin erinnernden Krampfwirkung des Oxycolchicins besitzt dasselbe veratrin-ähnliche Muskelwirkung. Fig. 1 zeigt eine Serie Zuckungen des Mm. gastrocnemius von einem Grasfrosch der mit 5 mg Oxycolchicin vergiftet worden war, bei wiederholter direkter elektrischer Reizung mit

Fig. 3. *Rana esculenta*. Tier von Fig. 2 nach Zerstörung des Rückenmarks.

Fig. 4. *Rana esculenta* (Kaltfrosch) 15 mg Oxycolchicin. Versuch 2 Stunden nach Injektion. Rückenmark zerstört. Zeit = Sekunden (26. II. 13).

Einzelinduktionsschlägen. Fig. 2 solche eines Wasserfrosches nach Vergiftung mit 10 mg des Produktes. Ich konnte die zweigipfelige, an den Veratrineffekt erinnernde Muskelzuckung aber nicht am kurarisierten Tier erhalten und auch nicht mehr nach Zerstörung des Rückenmarks, wie aus Fig. 3 ersichtlich. Hingegen ist auch noch unter diesen Bedingungen, wie schon Fig. 3, besser noch Fig. 4 zeigt, gesteigerte Ermüdbarkeit des Muskels bei wiederholter Reizung

sehr stark ausgesprochen. Nach kurzen Erholungspausen lassen sich an demselben Tiere neue solche Zuckungsserien aufnehmen.

Gesteigerte Ermüdbarkeit des Skelettmuskels, Zweigipfeligkeit der Muskelzuckung und Krampfwirkung sind nach Jacobj charakteristisch für das von ihm durch spontane oder Ozonoxydation aus dem Colchicin gewonnene amorphe, harzartige Oxydicolchicin der Formel $(C_{22}H_{25}O_6N)_2O$, in welchem an zwei Moleküle Colchicin ein Sauerstoff — vielleicht superoxydartig — gebunden erscheint. Die Krampfwirkung an Fröschen durch Oxydicolchicin kommt nach diesem Autor (l. c. S. 332) zustande durch Dosen von 5 mg und darüber während das Oxycolchicin in dieser Richtung etwa doppelt so wirksam ist, da Krämpfe selbst an großen Fröschen durch 2 mg sicher hervorgerufen werden. Das Oxydicolchicin wird nach Jacobj dargestellt durch Ausfällung braungefärbter Colchicinlösungen in Chloroform mittels Petroläther. Da das Produkt amorph ist und nur durch wiederholte fraktionierte Fällung gereinigt werden kann, wäre es wohl denkbar, daß es noch unverändertes Colchicin einschließt, und man könnte versucht sein, es als eine Mischung gleicher Teile Colchicin und Oxycolchicin aufzufassen. Dagegen spricht aber, daß Jacobj bei verschiedener Darstellung seines Produktes Präparate erhielt, welche bei der Verbrennung die nämlichen Kohlenstoff- und Wasserstoffwerte ergaben, dagegen spricht bei aller Ähnlichkeit aber auch das immerhin verschiedene pharmakologische Verhalten. Es ist mir trotz zahlreicher daraufhin gerichteter Versuche nicht gelungen, zweigipfelige Muskelzuckungen am kurarisierten oder des Rückenmarks beraubten Frosche durch Oxycolchicin zu gewinnen, wie solche Jacobj (S. 141) graphisch registriert hat und wie es mir mit Veratrin an Fröschen unter denselben Bedingungen leicht gelang. Dann unterscheidet sich aber das Oxycolchicin vom Oxydicolchicin fundamental durch die Wirkung am Säugetier.

Während das Oxydicolchicin nach Jacobj (S. 135) für Säugetiere etwa dieselbe Giftigkeit besitzt wie das Colchicin, erwies sich das Oxycolchicin in meinen Versuchen an Katzen und Kaninchen als das ungiftigste aller geprüften Colchicinderivate.

Eine Katze von etwa 2 kg erhielt 20 mg der Substanz unter die Rückenhaut in 2 ccm 50%igem Alkohol gelöst. Das Tier blieb vollständig normal. Eine andere ebenso große Katze erhielt die Menge von 50 mg. Abgesehen von geringer Alkoholwirkung zeigte das Tier keinerlei Erscheinungen. Nahrungsaufnahme, Ausscheidung von Kot und Harn blieben vollständig unbeeinflusst und das Tier erschien dauernd gesund. Eine andere Katze erhielt mit warmer

Milch gemischt 25 mg der Substanz durch die Schlundsonde in den Magen. Es war auch nicht die geringste Wirkung von dieser Dose zu beobachten.

Drei Kaninchen im Gewicht von etwa 2 kg gab ich je 40 mg Oxycolchicin, dem ersten per os, dem zweiten subkutan und dem dritten intravenös (in verdünnt-alkoholischer Lösung in die Ohrvene). An den drei Tieren war gleichfalls keine Wirkung der Substanz zu erkennen.

Endlich erwiesen sich mir im Selbstversuch innerliche Gaben von 1 und 3 mg als unwirksam.

Diese Versuche führten demnach zu dem bemerkenswerten Resultat, daß die höhere Oxydationsstufe, das Oxycolchicin, am Frosche wirksamer ist; als die niedere, das Oxydicolchicin, während am Säugetier nur die niedere Oxydationsstufe nennenswert giftig, die höhere in den angewandten großen Dosen ungiftig ist.

Um diese Befunde mit den Vorstellungen von Jacobj über die Wirkung des Colchicins in Einklang zu bringen, muß man annehmen, daß das Gift am Säugetier nur so lange seine Wirkung entfaltet, als es niedrig oxydiert ist, bei stärkerer Oxydation aber wieder entgiftet wird.

Zusammenfassung.

Einige von Prof. Windaus dargestellte Derivate des Colchicins wurden vergleichend mit der Muttersubstanz auf ihre Wirksamkeit geprüft. Hierbei ergab sich, daß das schon früher bekannte und geprüfte Colchicëin, in welchem nur eine Enolmethoxylgruppe des Colchicins verseift ist, viel weniger starke Wirkung besitzt, als der Methyläther, das Colchicin, daß hingegen bei weiterer Abspaltung des Azetylrestes von der Aminogruppe, wobei man zur Trimethylcolchicinsäure Zeisels gelangt, die Wirksamkeit gegenüber dem Colchicëin wieder zugenommen hat. Noch mehr nähert sich die Giftigkeit der ursprünglichen des Colchicins, ohne sie indes zu erreichen, wenn man durch Methylierung die ursprünglich im Colchicin vorhandene Methoxylgruppe wiederherstellt. Benzoylierung letzteren Produktes führt dann zu einer Substanz, welche sich vom Colchicin nur durch eine Benzoylgruppe an Stelle der Azetylgruppe unterscheidet, ein Derivat, das sich im Versuch an der Katze hinsichtlich seiner Magen-Darmwirkung als etwa zehnmal weniger wirksam erwies wie das Colchicin selbst. Ein durch Oxydation weiter abgebautes, in der Aminogruppe benzoyliertes inneres Säureanhydrid zeigte in großen Dosen noch immer die Colchicindarmwirkung.

Am interessantesten unter den geprüften Substanzen erscheint ein durch Chromsäureoxydation aus dem Colchicin zu erhaltendes Oxycolchicin, interessant namentlich im Hinblick auf das Oxydicolchicin Jacobys. Es besitzt an Fröschen wie letzteres Krampf- und veratrinähnliche Muskelwirkung und zwar schon in geringerer Dose als das Oxydicolchicin. Hingegen ist es im Gegensatz zu diesem an Säugetieren in den geprüften großen Dosen unwirksam.

Bei der hohen Giftigkeit des Colchicins würde sich in der Behandlung der Gicht versuchsweise die Verwendung der z. T. viel weniger giftigen Derivate empfehlen.