ARCHIV DER PHARMACIE.

7. Band, 2. Heft.

A. Originalmittheilungen.

Nachweis des Colchicins in gerichtlichen Fällen.

Von E. Dannenberg, Apotheker in Fulda.

Die folgenden Versuche wurden in Folge eines Criminalfalles zunächst zu meiner eigenen Belehrung unternommen. Die Lehrbücher, Anleitungen zur Ermittlung von Giften, enthalten zwar die Resultate ungleich zahlreicherer Versuche, als ich sie anstellen konnte, allein sie enthalten eben nur die Resultate, und es ist vielleicht Manchem erwünscht, einmal Einzelversuche nachlesen zu können, wenn er in gleiche Lage kommen sollte, wie ich bei jenem Criminalfalle. Die Literatur ist grade über das Colchicin noch keinesweges überfüllt, und Vergiftungen damit, zufällige, wie selbst culpose, liegen gar nicht so weit ausser dem Bereiche der Möglichkeit, wie man aus der geringen Zahl der bis jetzt bekannt gewordenen Fälle wohl schliessen möchte. Die Landleute kennen, wenigstens in hiesiger Gegend, die schädliche Wirkung der Herbstzeitlose sämmtlich, und ebenso gewiss auch anderwärts innerhalb des bekanntlich grossen Verbreitungsbezirks der Pflanze.

In jenem oben erwähnten Falle lag dringender Verdacht auf Colchicin vor. Es wurden eine Menge genereller Alkaloidreactionen erhalten, aber es gelang nicht, die entscheidende specifische Reaction mit Salpetersäure hervorzurufen. Der Arbeit war Otto's bekanntes Buch „Ausmittlung der Gifte“ zu Grunde gelegt und Aether zum Ausschütteln angewendet worden. Ich fragte mich nun, ob vielleicht ein anderes

Lösungsmittel besser zum Ziele geführt haben würde und die Antwort suchte ich durch die folgenden Versuche. Dragen-dorff empfiehlt in der inzwischen erschienenen zweiten Auflage seines höchst schätzbaren Werkes*) auf S. 259 Benzin und „wenn einmal ein kräftiger wirkendes Lösungsmittel indicirt sein sollte“, Chloroform. Allein er erklärt das Benzin selbst für ein schwaches Lösungsmittel (wie aus dem eben angeführten Worten hervorgeht) und vermuthet nur, dass „es nicht so viele fremde Stoffe lösen werde“. Zudem meint er das wirkliche Benzin (Phenylwasserstoff), dessen Beschaffung, für mich wenigstens, Schwierigkeit hat, und welches jedenfalls anders wirkt, als z. B. das Benzin Hagers, und wieder anders, als das Benzin Otto's**). Ich unterliess daher lieber, „Benzin“ in den Kreis dieser Versuche zu ziehen.

Nebenbei suchte ich die Widerstandsfähigkeit des Colchicins gegen Fäulniss zu prüfen.

Das zu den Versuchen verwandte Colchicin stellte ich mir nach Hübler (Archiv d. Pharm. 1865, März, S. 139 u. f.) dar, jedoch mit etwas abgekürzter Methode, weil ich es für meinen Zweck nicht so absolut rein nöthig hatte, wie Hübler. Unzerkleinerter Colchicumsaamen wurde einmal mit Weingeist von 0,83 sp. G. heiss ausgezogen, nach dem Erkalten colirt***) und die vereinigten Auszüge nach dem Klären durch Destillation concentrirt, nach dem Erkalten filtrirt und das Filtrat durch Bleiessig gefällt. Das überschüssig zugesetzte Blei wurde mit phosphorsaurem Natron entfernt und das Filtrat mit Gerbstoff gefällt, der Niederschlag gewaschen, mit Bleioxyd gemischt und eingetrocknet. Hübler kocht diese trockne Masse mit Weingeist aus, eine Operation, die ich nicht fertig

*) Gerichtl. chem. Ermittlung von Giften 2. Aufl. 1876.

**) Hager („Untersuchungen“) versteht unter Benzin den bei 80—100° übergehenden Theil des amerikanischen Steinöls, Otto das bei 60—80° Uebergehende, analog dem Benzinum petrolei der deutschen Pharmacopöe.

***) Pressen nützt bei der Boschaffenheit des Saamens nichts, wohl aber lohnte es sich, nach dem letzten Auszuge den anhängenden Weingeist nach Zusatz von Wasser durch Destillation wieder zu gewinnen.

brachte wegen ungewöhnlich heftigen Stossens im Kolben und höchst unliebsamen Spritzens, als ich es (selbstverständlich im Dampfbade und unter sorgfältigstem Rühren) in offener Schaafe versuchte. Ich begnügte mich daher mit mehrstündiger Digestion in gelinder Wärme, welche nach dem Abgiesen der (trüben) Flüssigkeit noch zweimal wiederholt wurde. Die erhaltenen Flüssigkeiten klärten sich sehr schwierig und erst nach fünftägigem Filtriren war die etwa drei Pfund betragende Menge leidlich klar. Nach Entfernung des Weingeistes wurde die Fällung mit Gerbstoff und Zersetzung durch Bleioxvd wiederholt, aber nicht zur Trockne, sondern bis zum dicken Brei verdunstet, worauf die Behandlung mit Weingeist und die Filtration besser ging, als das erste Mal. Die klare gelbe Lösung gab nach dem Verdunsten eine dunkelgelbe, gummiartige zähe Masse, die sehr schwer austrocknete und erst nach dreitägigem Stehen auf Dampf, auf einen flachen Teller dünn ausgestrichen zerreiblich wurde. Eine vorherige Reinigung der Gerbsäure und einige andere Vorsichtsmaassregeln, die Hübler noch anwandte, um ein reineres Präparat zu erhalten, liess ich aus dem oben angegebenen Grunde ausser Acht. Die Ausbeute betrug aus 10 Pfund Saamen beiläufig etwas über 9 g. *)

Es ist ein trübelgelbes Pulver, beim Reiben im Mörser wie Harz sich anhängend, in Wasser und Weingeist leicht löslich, nach dem es sich anfangs am Boden des Gefässes, in Klümpchen zusammengeballt, festsetzte. Die etwas auffallende Angabe Hüblers (l. c. S. 197), dass es in Aether unlöslich sei, fand ich bestätigt: 30 g. Aether, welche vier Wochen lang über 1 g. unter häufigem kräftigen Schütteln gestanden hatten, hinterliessen keinen merklichen Rückstand. Dies gilt natürlich nur vom wasser- und weingeistfreiem Aether und

*) Meiner Ansicht nach kann man die officinellen Tinct. und Vin. colch. recht gut aus ganzem Saamen bereiten. Nur muss man die Arbeit bei höherer Temperatur in einer Retorte mit Kühler vornehmen und den abdestillirenden Weingeist von Zeit zu Zeit zurückgiessen. Es ist das jedenfalls leichter, als das Stossen des Saamens.

der scheinbare Widerspruch, dass das Colchicin trotz seiner Unlöslichkeit in Aether doch aus wässriger Lösung in diesen übergeht, erklärt sich durch Aufnahme von Wasser seitens des Aethers beim Schütteln. (Andrerseits erklärt sich auch wohl daraus die Thatsache, dass der Aether der wässrigen Lösung zur Zeit nur wenig und überhaupt nie alles Colchicin entziehen kann.) Es giebt die für Colchicin geforderten Reactionen gut, die Färbung mit Salpetersäure ist intensiv dunkelblau violett, ich möchte sie mit der Farbe der Blüten von *Muscari racemosum*, oder recht dunkler *aquilegia vulgaris* vergleichen, doch ist sie weniger schön als diese.

Der zu den Versuchen benutzte Aether, wie das Chloroform waren möglichst frei von Weingeist, was ich für durchaus nöthig halte, da ein weingeisthaltiger Aether aus der wässrigen Lösung, die ja von einem weingeistigen Auszuge her stammt, jedenfalls mehr extractive Stoffe aufnehmen wird als ein weingeistfreier. Absolute Entwässerung scheint mir überflüssig, da ja der Uebergang von Wasser in jene Lösungsmittel während des Schüttelns sich nicht vermeiden lässt. Den benutzten Amylalkohol verdanke ich der Güte des Herrn Professor Dr. v. Usler, welchen ich darum gebeten hatte, um sicher einen authentisch guten Alkohol zu bekommen. Die angewandte Salpetersäure war frei von salpetriger Säure und wog nahezu 1,4.

Bekanntlich stösst man nach Stas-Otto dadurch leicht auf Colchicin, dass es aus einer sauren wässrigen Lösung beim Schütteln damit in Aether übergeht. Allerdings thun dies noch mehrere „—ine“; von den giftigen: Digitalin, Pikrotoxin, Cantharidin, Atropin, Veratrin, allein theils geben sie die allgemeinen Alkaloid-Reactionen nur theilweise (Digit.), theils gar nicht (Pikrot. Canthar.), theils erscheinen sie, besonders bei einigermaassen saurer Lösung, in so geringer Spur, dass auch nur spurenweise Reactionen erhalten werden können. Giebt also ein in Aether gelöst gewesener Körper einigermaassen copiose Reactionen mit Gerbsäure, Jodlösung u. s. w., so ist der Verdacht auf Colchicin höchst nahe gelegt. Die Entscheidung hängt zuletzt von dem scharfen Erscheinen der

Reaction mit Salpetersäure ab. Diese wird bei gleichzeitiger Anwesenheit fremder extractiver Substanzen leicht verdeckt und modificirt und ist dann, wenn auch vielleicht für Uebungsanalysen noch anzuerkennen, doch für gerichtliche Fälle unbrauchbar. (Vgl. die vierte Versuchsreihe.)

Erste Versuchsreihe.

Diese Versuche wurden in der Weise ausgeführt, dass ich je 50 g. frisches Fleisch, fein gehackt, in 100 g. Wasser aufschlammte und nun Lösungen von 0,02 — 0,01 — 0,005 u. s. f. Colchicin in 20 g. Wasser gelöst, hinzufügte. Die Mischung blieb zwei Tage lang in Digestion zwischen 30 und 40° C. und wurde unterdessen dreimal je eine Stunde lang in ein siedendes Wasserbad eingesetzt, theils um Fäulniss zu verhüten (es war im Sommer), theils um möglichst viel Fleischextract in Lösung zu bekommen. Jetzt wurde die sauer reagirende Masse ohne weiteren Zusatz einer Säure mit dem doppelten Volum Weingeist von 0,83 gemischt, unter zeitweiligem Umschütteln nochmals langsam bis zum beginnenden Sieden erwärmt und nach dem Erkalten filtrirt. Das Filtrat wurde genau nach Otto, Seite 65 ff. *) weiter behandelt, worauf ich hier verweise, da das Buch ja viel verbreitet, auch die Methode bekannt ist. Hervorheben will ich nur vom practischen Standpunkte aus, dass es wesentlich ist, aus der Lösung in absolutem Alkohol beim Verdunsten derselben jede Spur von Weingeist zu entfernen. Die zähe gewordene Extractmasse hält denselben aber hartnäckig zurück und man kommt rascher zum Ziele, wenn man das Extract mit einigen Tropfen Wasser verflüssigt und wieder verdunstet.

Die Ausschüttelungen mit Aether geschahen zuerst mit etwa zwei Volum, welche dann abgegossen und bei Seite gestellt wurden, dann noch viermal mit je fünf bis sechs Volum. Der Aether wurde bis auf einen kleinen Rest

*) Ausmittlung der Gifte, 5. Aufl., welche hier stets verstanden ist, wenn Otto erwähnt wird.

abdestillirt,*) der Rest dann im Schälchen bei gelindeste Wärme eingetrocknet und zu den Reactionen benutzt.

1) 50 Fleisch, 120 Wasser, 0,02 Colchicin. Verhältniss: 2500 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 8500: 1.

Reactionen mit Gerbsäure, Jod (d. h. Jodjodkaliumlösung), Goldchlorid, Platinchlorid, Phosphormolybdänsäure, Chlorwasser, Quecksilberchlorid, gelangen sämmtlich. Starke Salpetersäure (1,4) färbte intensiv und rein blauviolett, gewöhnliche (officinelle reine) Salpetersäure löste mit gelber Farbe, in welcher beim Hinzufliessenlassen von conc. Schwefelsäure dieselbe blauviolette Färbung, nur verdünnter, entstand.**)

2) Fleisch und Wasser, wie in 1. Colchicin 0,01. Verhältniss: 5000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 17000: 1.

Die in 1. angeführten Reactionen erschienen noch deutlich mit Ausnahme von Platinchlorid und Quecksilberchlorid, welche ausblieben. Chlorwasser: unsicher, Goldchlorid: nur Reduction. S. I. und II.: rein und gut, doch nur dunkelviolett, nicht blauviolett zu nennen, besonders Letztere.

3) Fleisch und Wasser wie in 1. Colchicin 0,005. Verhältniss: 10000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 34000: 1.

Die generellen Reactionen bleiben sämmtlich aus, nur Gerbsäure giebt schwache, Jod sehr schwache Trübung. S. I. färbt intensiv rothviolett (kirschroth), S. II. ebenso, aber heller, oder vielmehr verdünntes kirschroth.

4) Fleisch und Wasser wie in 1. Colchicin 0,0025. Verhältniss 20000: 1. Ganze Verdünnung 68000: 1.

Keine der generellen Reactionen erscheint, mit Ausnahme geringer Trübung durch Gerbsäure, auch nur andeutungs-

*) Diese Destillation geht einfach aus einem in warmes Wasser gesetzten Kochfläschchen mit aufgesetztem zweimal gebogenen Rohre, dessen äusserer Schenkel in ein in kaltes Wasser getauchtes Glas mündet.

**) Der Kürze halber will ich fortan diese beiden Salpetersäureproben „S. I“ und „S. II“ nennen, die später zu erwähnende Flückiger'sche Reaction, sowie Erdmann's Reagens in Bezug auf Colchicin kannte ich damals (Sommer 1875) noch nicht.

weise. S. I. und II. geben deutliche Färbungen, aber heller und verdünnter, wie in 3, geradezu hellrothlila (zart rosafarbig).

Hiernach ist die Reaction mit Salpetersäure eine sehr feine und muss, um Colchicin zu constatiren, unter allen Umständen hervorzurufen gesucht werden. Sie blasst bei grosser Verdünnung aus blau- in rothviolett ab, d. h. bei Gegenwart extractiver Stoffe aus Fleisch, denn bei reinem Colchicin ist diese Rothfärbung auch bei grosser Verdünnung nie so ausgesprochen,*) wie oben.

Zweite Versuchsreihe.

Hier wandte ich statt Fleisch Fleischextract an, um die Einzelarbeiten etwas abzukürzen. Das Extract hatte ich, um es etwas zu verändern, vielleicht mehr leichtlösliche Theile hineinzubringen, mit etwas Salzsäure (1 g. auf 50 g. Extract) versetzt, in der dreifachen Menge Wasser gelöst, auf dem Dampfbade ohne Umrühren (um die Verdunstung langsamer vor sich gehen und dadurch der „Zersetzung“ des Extractes mehr Zeit zu lassen) wieder zum Extract gebracht und diese Operation wiederholt. Das so vorbereitete Extract wurde nun mit Wasser auf 1500 g. verdünnt. Nach Liebig's ursprünglicher Angabe entspricht 1 Thl. Fleischextract etwa 30 Thl. mageren Fleisches, folglich entspricht 1 Thl. jener Lösung 1 Thl. Fleisch. Portionen dieser Lösung wurden nun mit kleinen Mengen Colchicin versetzt, die Salzsäure mit kohlensaurem Natron weggenommen und etwas Weinsäure zugefügt, dann verdunstet, mit Weingeist behandelt u. s. w., und zuletzt, statt mit Aether, mit Chloroform ausgeschüttelt und zwar je nur einmal mit etwa zwei Volum. Das Chloroform wurde durch Destillation im Wasserbade grösstentheils wieder gewonnen und der jeweilige kleine Rest im Schälchen vollends verdunstet. Um sicher zu sein, ob sich nicht durch den Einfluss der Mineralsäure auf die Fleischsubstanz irgend ein Körper gebildet habe, der durch alkalische Reactionen zu Täuschungen

*) Bekanntlich wird die blaue Jodstärke-Reaction bei grosser Verdünnung auch röthlich, ebenso Eisen-Tannin-Reaction.

Anlass geben könnte, wurde ein Theil der Lösung ohne Zusatz von Colchicin derselben Behandlung unterworfen.

1) 200 g. obiger Lösung mit 0,1 Colchicin in 20 Wasser gelöst. Verhältniss: 2000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 2200 : 1.

Chloroformlösung gelb, Abdampf-Rückstand derselben schmutzig braunroth, in Wasser trübe löslich. Reactionen mit den in 1. der Ersten Reihe benannten Reagentien sämmtlich befriedigend, z. Th. (Gerbstoff, Jod, Phosphormolybdänsäure) sehr stark. Kaliumquecksilberjodid mit nachfolgendem Zusatz von einem minimum Chlorwasserstoff (Flückiger's Reaction)*) gab copiosen Niederschlag; Erdmann's Reagens in der von Dragendorff (2. Aufl.) auf S. 261 angegebenen Modification (Auflösen in Schwefelsäurehydrat und nach 24 stündigem Stehen unter Bedeckung Zusatz eines Minimums starker Salpetersäure) zeigte die dort angegebenen Farbveränderungen: Grün, Blau, Violett, zuletzt Gelb, deutlich. S. I. und S. II.: Beide sehr schön und intensiv.

2) Lösung wie in 1., doch mit 0,05 Colchicin. Verhältniss: 4000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 4400 : 1.

Chloroformlösung hellgelb, deren Abdampfrückstand bräunlich gelb, in Wasser trübe löslich. Reactionen erscheinen noch sämmtlich, die mit Salpetersäure kaum weniger intensiv, wie in 1.

3) Lösung wie in 1. Colchicin 0,02. Verhältniss: 10000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 11000 : 1.

Chloroformlösung kaum gefärbt, Abdampfrückstand derselben hellgelb (wie die folgenden), in Wasser trübe löslich.

Reactionen mit Platinchlorid und Quecksilberchlorid bleiben aus, oder sind doch so unsicher, dass man nur, weil man

*) Bunzl. Pharm. Zeit. 1875. No. 102. (Verhandlungen des Berliner Vereins). Die in obigen Versuchen zu prüfenden Proben enthielten eine Spur freier Weinsäure. Der mit Flückiger's Reagens zu prüfende Tropfen wurde daher stets vorher durch ein nahe darüber gehaltenes in Ammon getauchtes Glasstäbchen neutralisirt. Etwa überschüssig hinein gekommenes Ammon liess sich durch Blasen mit einem Glasröhrchen entfernen.

weiss, dass Colchicin vorhanden, sie zu sehen glauben möchte. Die übrigen sind noch deutlich. Bei Erdmann's Reaction fehlt das Blau, die Farbenveränderung geht aus Grün direct in ein trübes Violett über. S. I. und II. noch stark und schön blauviolett, II, wie stets, verdünnte und reiner blau gefärbt, als I.

4) Lösung wie in 1. mit 0,01 Colchicin. Verhältniss: 20000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung: 22000 : 1.

Von Reactionen bleiben ausser den in 3. erwähnten noch die mit Chlorwasser und mit Goldchlorid aus. Diese giebt nur Reduction ohne vorherigen Niederschlag. Flückiger's Reaction noch deutlich, Erdmann's Reaction zeigt nur dunklere Färbung, unsicher ob grün oder blau zu nennen (aber nicht etwa braun), rasch in Gelb verblassend. S. I.: sehr deutlich blauviolett, S. II.: heller, fast rein blau.

5) Lösung wie in 1. Colchicin 0,005. Verhältniss: 40000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 44000 : 1.

Reactionen mit Gerbsäure, Jod, Phosphormolybdänsäure, Flückiger's Reagens noch deutlich. Letztere jedoch schwach, Erdmann's Reagens zeigt schwache, vorübergehende dunklere Färbung, ohne genau bestimmbare Farbe. S. I.: blaulila, doch nicht rein, schwach ins Braune spielend, S. II. heller, fast rein blau, aber rasch verschwindend.

6) Lösung wie in 1. mit 0,0025 Colchicin. Verhältniss: 80000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 88000 : 1.

Von Reactionen erscheinen die mit Gerbstoff (schwach) Jod, Phosphormolybdänsäure (rasche Reduction) und Flückiger's Reagens (schwach, fast unsicher) S. I.: dunkelrothviolett, aber noch ziemlich stark, S. II.: nicht deutlich hervorzurufen, trüb rosa, rasch verschwindend.

7) Lösung wie in 1. mit 0,001 Colchicin. Verhältniss: 200000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung: 220000 : 1.

Von generellen Reagentien wirkt nur noch Gerbstoff schwach (Vgl. Versuch 8.) S. I. färbt trübe hell rosa. S. II.: nicht hervorzurufen.

8) Der Rest der Lösung (100 g.) ohne Colchicinzusatz.

Im Abdampfrückstande der Chloroformlösung gab Gerbstoff eine schwache Trübung, wie in 7, die hier aber jedenfalls nicht von Colchicin herrührte, sondern wohl von einem Restchen Leim aus dem Fleischextract, welches durch das vom Chloroform gelöste Wasser mit herüber genommen war. S. I. färbte braungelb, in Wasser mit hellcitrongelber Farbe löslich, mit Aetzlauge schön dunkelgelb (Pickrins. Natron!). Ist auch die durch Colchicin entstehende Färbung mehr rothgelb, bei grösserer Concentration fast orangeroth,*) so kann sie doch leicht damit verwechselt werden und hat keinen Werth, wenn nicht Blau- oder Violettfärbung durch die Salpetersäure vorherging.

9) Um zu erfahren, ob diese ungleich höhere Leistung des Chloroforms gegenüber dem Aether etwa darin ihre Erklärung finde, dass die Ausziehung aus Fleischextract leichter sei, als aus Fleischmasse selbst, und zugleich um dem Vorwurfe zu begegnen, dass ich die Versuche der ersten und zweiten Reihe nicht unter gleichen Umständen (das eine Mal aus Fleisch, das andere Mal aus Extract) angestellt habe, wurde der Versuch 4. der ersten Reihe wiederholt, aber hier mit Chloroform (2 Volum der wässrigen Lösung) ausgeschüttelt:

50 feinzertheiltes Fleisch, 120 Wasser mit 0,0025 Colchicin. Verhältniss: 20000 Fleisch zu 1 Colchicin. Ganze Verdünnung 68000 : 1.

Verdunstungsrückstand der Chloroformlösung schmutzig gelb, seine Lösung in Wasser ziemlich klar. Reactionen mit Gerbstoff, Jod, Phosphormolybdänsäure erscheinen ziemlich deutlich, etwa die Mitte haltend zwischen denen der Vers. 5 und 6. Flückiger's Reaction schwach, aber deutlich und sicher. S. I.: schön dunkelviolet, mit Stich ins Rothe, die Färbung reiner und schöner, als bei den Proben mit Fleischextract. S. II.: sehr schnell vorübergehende hellrothviolette Färbung.

*) Kubel'sche Reaction. Otto. S. 53.

Hiernach nimmt Chloroform das Colchicin ungleich leichter und reichlicher aus wässriger Lösung auf, als Aether, zugleich auch reiner und freier von fremden Extractivstoffen.

Dritte Versuchsreihe.

Hier wurde genau, wie in der ersten Reihe, verfahren, jedoch zum Ausschütteln Amylalkohol genommen. Die Scheidung des Gemisches der wässrigen (säuerlichen) Lösung mit etwa zwei Volum Amylalkohol ging sehr langsam*), vollständig erst in der Wärme vor sich. Da der Amylalkohol bei etwa 132° C. siedet, das Colchicin aber eine Temperatur von 130—140° „noch verträgt“, wie Hübler angiebt, so konnte ich hier nicht, wie bei Aether und Chloroform, den grössten Theil des Lösungsmittels durch Destillation, namentlich aber nicht durch Destillation im Wasserbade entfernen, sondern musste die ganze Menge im Schälchen verdunsten lassen. Diese Arbeit ist nichts weniger als angenehm, denn, abgesehen von der Verbreitung des üblen Fuselgeruches durch das ganze Haus, bekam ich, sonst gegen „chemische Gerüche“ ziemlich indifferent, bei wiederholtem Operiren damit ein lästiges Gefühl von Uebelkeit, besonders, wenn ich der Dampfquelle nahe war, um die Verdunstung durch Rühren zu befördern**). Aus diesem Grunde beschränkte ich mich auf wenige Versuche damit.

1) 200 g. Fleischextractlösung, ebenso zubereitet, wie für die zweite Versuchsreihe mit 0,005 Colchicin in 20 Wasser gelöst. Verdünnung entsprechend dem Versuch 5 der zweiten Reihe.

Die Lösung in Amylalkohol ist schwach gelb, ihr Abdampfückstand schmutzig gelb. Reactionen mit Gerbstoff, Jod, Phosphormolybdänsäure, Chlorwasser, Flückiger's und

*) Otto macht schon hierauf aufmerksam S. 76. Raschere Trennung durch Weingeistzusatz erreichen zu wollen (S. 77), kann ich nicht billigen, da dadurch jedenfalls mehr extractive Stoffe in den Amylalkohol kommen, als ohne den Weingeistzusatz.

**) Andere haben über Reiz in den Augen geklagt.

Erdmann's Reagens gelangen befriedigend. In letzterem fehlte das Blau, die Farbenänderung ging aus Grün direct in Lila über. Goldchlorid gab nur rasche Reduction. S. I. wie S. II.: sehr rein und schön.

2) Lösung wie in 1. mit 0,0025 Colchicin. Entsprechend dem Versuch 6 der zweiten Reihe. Reactionen gelangen mit Gerbstoff, Jod, Phosphormolybdänsäure, Flückiger's Reagens. Erdmann's Reagens versagte (färbte nur undefinirbar dunkler, bald heller werdend). S. I.: rein blauviolett, wie reines Colchicin, ohne Stich ins Rothe. S. II.: färbt verdünnt blauviolett, nicht röthlich.

3) 200 der Fleischextractlösung mit 0,005 Colchicin in 20 Wasser gelöst, wurden abgedampft zuletzt unter Zusatz von 20 g. reinen (gefällten) Schwerspaths zur Trockne gebracht, der Rückstand zweimal mit Amylalkohol durch Einsetzen des Kochfläschchens in siedendes Wasser warm ausgezogen. Neutralisation mit Ammon, wie auch Reinigung mit salzsäurehaltigem Wasser*) unterblieb, weil ich ja wusste, dass ich mit Colchicin zu thun hatte. Die gelbe Amylalkohollösung gab einen schmutzig braunen Rückstand, der die gewünschten generellen Reactionen erzeugte, mit S. I. trübe blauviolett, schwach bräunlich wurde, mit S. II. eine unsichere dunkle Färbung gab. Ich zweifle nicht, dass, wenn ich die Reinigung mit saurem Wasser vorgenommen hätte, die Reaction mit Salpetersäure befriedigender ausgefallen wäre.

Diese wenigen Versuche zeigen, dass der Amylalkohol zum Ausziehen des Colchicins aus wässriger saurer Lösung dem Chloroform mindestens gleich steht, vielleicht dasselbe noch übertrifft. Leider ist das Arbeiten damit in einem pharmaceutischen Laboratorium, wenn dieses keinen absoluten Abschluss gegen das Haus, oder keine Vorrichtung, schädliche Dämpfe sicher direct in den Schornstein zu leiten, besitzt, sehr unangenehm.

*) Vgl. Hager, Untersuchungen II, 240.

Vierte Versuchsreihe.

Widerstandsfähigkeit des Colchicins gegen Fäulniss und saure Gährung.

Am 1. Juni 1875 wurden fünf Proben angesetzt und zwar drei von je 50 g. zerkleinertem Fleisch mit 100 g. Wasser und 0,05 g. Colchicin, eine vierte ebenso, aber ohne Colchicin, eine fünfte aus 50 g. lufttrockner Brodkrume in 100 g. Wasser vertheilt mit 0,05 g. Colchicin. Die erste der mit Colchicin versetzten Fleischproben wurde einen Monat, die zweite zwei Monate, alle übrigen drei Monate lang sich selbst überlassen. Während dieser Zeit war zunächst im Juni während vierzehn Tagen und später wiederholt recht warmes Sommerwetter gewesen und die Temperatur war an dem Orte, wo die Proben standen, nie unter 16° C. gefallen.

Die Bearbeitung aller Proben geschah zunächst nach Otto's „Ausmittlung der Gifte.“ Die faulen, alkalisch reagierenden Flüssigkeiten wurden mit Weinsäure schwach angesäuert, die sehr saure Brodflüssigkeit zuvor mit kohlen-saurem Natron neutralisirt und ebenfalls mit Weinsäure versetzt. Den aus den Fleischproben erhaltenen weingeistigen Lösungen hing der faulige Geruch sehr fest an und ging auch in die letzte wässrige Lösung über. Die Hoffnung, denselben durch Petroläther entfernen zu können, schlug fehl bei der ersten Probe (1 Monat Fäulniss), wesshalb ich diesen Versuch bei den Uebrigen gar nicht machte. Der Petroläther schied sich sehr schwierig wieder ab und löste überhaupt so gut wie Nichts, da er kaum bemerkbaren Rückstand zurückliess.

Die Fleischflüssigkeiten hatten je nach der Dauer der Fäulniss progressiv dunklere Farbe, ebenso die Verdunstungsrückstände der Aetherlösungen. Sie waren also um so extracthaltiger, je länger die Fäulniss gedauert hatte. Das Aetherextract aus der ersten Probe (1 Monat Fäulniss) war röthlich gelb, gleichförmig schmierig, fast wie gewöhnliches Fleischextract anzusehen, das nach zweimonatlicher Fäulniss war etwas körnig oder krümelig, das nach drei Monaten erhaltene sehr krümelig.

1) Einmonatliche Fäulniss. Das durch Ausschütteln mit Aether erhaltene Extract betrug mindestens einmal so viel, als das in der ersten Reihe aus 50 g. frischen Fleisch erhaltene. Es gab mit Gerbstoff, Jod, Phosphormolybdänsäure, Chlorwasser, Goldchlorid, Platinchlorid-Niederschläge, bezw. Trübungen. Der Gerbstoffniederschlag war dunkler, röthlich gelb, der Jodniederschlag heller, wie von reinem Colchicin (zimmtfarben). Bei Gold und Molybdän erwartete ich wegen des fauligen Geruches rasche Reduction, doch trat dieselbe kaum schneller ein, wie bei den Versuchen mit frischem Fleisch. S. I. färbte rein dunkelbraun, ohne Andeutung von Blau oder Violett. S. II. gab ebenfalls nur braune Färbung.*)

Jetzt löste ich den von den Reactionsversuchen noch übrigen Rest des Aetherextractes wieder in der mit Aether ausgeschüttelten Flüssigkeit, verjagte den anhängenden Aether und schüttelte nun mit Chloroform aus. Das Product war jedenfalls freier von extractiven Stoffen. Die Reaction mit Gerbstoff und Jod hatten jetzt die ihnen zukommende Farbe, S. I. gab sehr deutliche, kaum etwas schmutzige blauviolette Färbung, S. II. reagirte heller, dafür aber reiner blauviolett.

2) Zweimonatliche Fäulniss. Aetherauszug. Die in 1. erwähnten generellen Reactionen erfolgten sämmtlich. Gerbstoff- und Jodniederschlag noch missfarbiger wie dort, Gold rasch reducirt, Molybdän auch, doch langsamer. S. I. und II., wie zu erwarten, nur Braunfärbung. Diesmal wurden nur die Reste von den Reactionen benutzt, um, in Wasser gelöst, mit Chloroform ausgeschüttelt zu werden (nicht die bereits mit Aether behandelte Flüssigkeit mit hinzugenommen.)

Der Chloroform-Auszug giebt die Reactionen reiner, der Gerbstoff-Niederschlag ist noch röthlich gelb. S. I. und II.: Beide schön rein blau violett, ebenso intensiv, wie in 1.

3) Dreimonatliche Fäulniss. Ausschütteln mit Aether wurde hier ganz unterlassen, weil dasselbe in 1. und 2. die

*) Die Flückiger'sche, sowie die Erdmann'sche Reaction in Bezug auf Colehicin kannte ich damals noch nicht.

Reaction mit Salpetersäure nicht gegeben hatte. Der Chloroform-Auszug lieferte die Reactionen befriedigend. S. I. sehr dunkel blauviolett, vielleicht etwas bräunlich, S. II.: schön und rein.

4) Dreimonatliche Fäulniss ohne Colchicin. Dieser Versuch wurde nur angestellt, um zu sehen, ob etwa nicht in der gefaulten Masse ein Stoff aufgetreten sei, der, indem er diese oder jene Alkaloidreaction gab, zu Täuschungen Veranlassung geben könne (Septicin). Das Resultat fiel hier vollständig negativ aus. Weder im Aether- noch im Chloroform-Auszuge erschien eine der generellen Reactionen, — mit Ausnahme von Gerbstoff, der im Aetherauszuge schwache Trübung gab. Dieselbe scheint von Leim herzurühren, der also trotz dreimonatlicher Fäulniss noch nicht zerstört war. S. I.: veranlasste Pikrinsäurebildung. (Vgl. 2. Versuchsreihe, Vers. 8.)

5) Brodkrume in dreimonatlicher Gährung. Die Mischung war von oben her fest zu $\frac{1}{4}$ in eine feste zähe Schimmeldecke verwandelt. Sie musste mit sehr viel, etwa 5 Volum, Weingeist versetzt werden, weil sie sich sonst nicht klar filtriren liess. Auch die auszuschüttelnde wässrige Lösung wurde erst durch oft wiederholtes Zurückgiessen auf dasselbe Filter leidlich klar.

Aus dem Aetherauszuge erschienen die Generalreactionen sehr gut, nur die mit Gold (sehr rasche Reduction) und Platin waren unsicher. Die Salpetersäure-Reaction blieb ebenso vollständig aus, wie in 1. und 2. Dann, mit Chloroform behandelt, wie oben in 1., erfolgte nunmehr die Färbung mit S. I. sowohl, als auch mit S. II. ausgezeichnet schön, reiner als aus den Fleischproben.

Wenn durch Ausschütteln mit Aether aus saurer Lösung Etwas in den Aether übergegangen ist, was die generellen Alkaloid-Reactionen ziemlich copiös giebt, also der Verdacht auf Colchicin sehr nahe gerückt ist, wenn es aber dann nicht gelingen will, die Salpetersäure-Reaction rein, oder überhaupt nur zu erhalten, so dürfte sich nichts dagegen einwenden lassen, nunmehr diese durch Aether bereits aus

saurer wässriger Lösung ausgezogene Substanz versuchsweise aus alkalischer Lösung nochmals auszuschütteln. Man sucht sich dann durch wiederholtes Ausziehen mit Aether möglichst viel davon zu verschaffen. Ich versuchte dies mit den noch übrigen Resten von Vers. 5. Das Chloroform-Extract wurde wieder in seiner Mutterflüssigkeit gelöst (um die ursprüngliche wässrige Lösung wieder herzustellen), das anhängende Chloroform verjagt und jetzt sechsmal hintereinander mit etwa dem fünffachen Volum Aether ausgezogen. Der Verdampfungsrückstand der ätherischen Lösung verhielt sich gegen Salpetersäure, wie zu erwarten war, genau so, wie in Vers. 5 bemerkt wurde. Nun löste ich in schwach ammonhaltigem Wasser, theilte diese Lösung in zwei Theile und behandelte den einen Theil mit Aether, den andern mit Chloroform. Der Aether-Auszug lieferte die Salpetersäure-Reaction unrein braunblauviolett (chocoladefarbig), der Chloroform-Auszug dagegen überraschend rein. Die noch vorhandenen Reste von Vers. 3 der vierten Reihe wurden ebenso behandelt und lieferten nahezu das gleiche Resultat, namentlich schöne Salpetersäure-Reaction im Chloroform-Auszuge. Und doch konnte in den beiderlei Resten die Gesamtmenge des hier noch vorhandenen Colchicin nur eine sehr geringe sein.

Ich stellte gleiche Versuche mit zwei Substanzen an, von welchen ich die Lieferung eines schlechten, d. h. extracthaltigen Aetherauszeuges voraussetzen durfte, nemlich mit Caramelllösung (sog. Tinct. sacchari) und mit braunem Syrup (Syr. holland.). In 20 g. davon wurden mit 0,02 g. Colchicin in 20 g. Wasser gelöst, versetzt, abgedampft, durch absol. Weingeist von dem darin Unlöslichen befreit, die weingeistige Lösung verdunstet, ihr (saurer) Rückstand in Wasser gelöst und zunächst mit Aether reichlich ausgeschüttelt, nachdem der erste Auszug bei Seite gestellt war. Der Aetherauszug enthielt bei Beiden relativ viel extractive Stoffe (er blieb schmierig), gab die generellen Reactionen befriedigend, bis auf Erdmann's Reaction (braun schon durch die Schwefelsäure), Salpetersäure färbte schmutzig braun bei der Caramelllösung,

braun mit Stich in Violett beim Syrup. Die Aether-Extracte, in ammonhaltigem Wasser gelöst, geben nun mit Chloroform beide ausgezeichnet reine Reaction mit Salpetersäure.

Zur weiteren, gleichsam practischen Prüfung der Resultate der bisherigen Versuche wurde ein Kaninchen mit Colchicin vergiftet, eine Operation, welche mein verehrter Freund, Herr Kreisthierarzt Eberhardt hierselbst, auf meine Bitte vollzog. Das Thier erhielt anfangs kleine Dosen von 0,01 zweimal täglich, allmählig, dann als es sich immer noch indifferent zeigte (es war ein altes Thier), rasch steigend. Erst am sechsten Tage traten krankhafte Erscheinungen ein und verschied es in der darauffolgenden Nacht, nachdem es am sechsten Tage in drei Gaben zusammen 0,12 bekommen hatte. Im Ganzen während der sechs Tage waren 0,28 g. verbraucht.

Magen und Darmkanal nebst Inhalt behandelte ich zunächst genau nach Otto's Anweisung (S. 65 u. folg.) Es machte grosse Schwierigkeit, die wässrige Lösung des Alkohol absolutus-Auszuges klar zu bekommen*). Eine feinertheilte harzartige Substanz (Chlorophyll?) war darin suspendirt, welche auch bei längerem Stehen in der Wärme, sowie auch nach Zusatz von Weingeist, worin sie sich löste, und bei Wieder-Verdunstung desselben fein zertheilt blieb und beharrlich mit durch das Filter ging. Petroläther löste sie nicht und es blieb Nichts übrig, als nach Verjagung des Petroläthers die Flüssigkeit noch zu verdünnen und oftmals durch dasselbe Filter laufen zu lassen, wodurch denn schliesslich der Zweck erreicht wurde.

Ausschüttelung mit Aether lieferte die generellen Reactionen befriedigend, bis auf die mit Platinchlorid, welche nicht zu erreichen war. Erdmann's Reagens färbte braun, d. h. schon die Schwefelsäure that dies und die später zugesetzte Salpetersäure änderte daran nichts mehr. S. I. gab eine

*) Otto sagt (S. 84) „Speisen aus Fleisch und Kartoffeln sind sehr leicht zu untersuchen, am mühsamsten zu verarbeiten sind Speisen aus grünem Gemüse“. Nun, hier war ja „grünes Gemüse“!

dunkle, mehr braun, als violette Färbung, S. II.: ähnlich aber heller und mit deutlicher Neigung in Violett.

Jetzt zog ich die saure wässrige Lösung noch mehrmals mit Aether aus, vereinigte dessen Abdampfrückstand mit dem von den Reactionsproben übrigen Reste, löste Alles in schwach ammonhaltigem Wasser (diese Lösung musste nochmals filtrirt werden, was aber ganz gut ging) und schüttelte mit Chloroform aus. Dieser Chloroform-Auszug lieferte mit S. I. wie mit S. II. die Colchicin-Reaction schön und rein. Auch Erdmann's Reaction gelang jetzt recht gut. Die aus diesem Chloroform-Auszuge erhaltenen Reactionen erinnerten in ihrer Intensität an die Versuche 3. und 4. der zweiten Reihe. Es war also, wenn man nicht annehmen will, dass trotz des siebenmaligen Ausziehens mit viel Aether doch noch viel Colchicin in der wässrigen Flüssigkeit enthalten sei, im Ganzen nur sehr wenig davon in dem Verdauungscanal des Thieres zurückgeblieben. Die mit Aether ausgezogene Flüssigkeit, nachträglich mit Chloroform behandelt, lieferte noch etwas Colchicin, aber sehr wenig, so dass die mit S. I. erzielte Färbung dunkelrothviolett (kirschroth) ausfiel.

Als Resultat dieser Versuche glaube ich Folgendes hinstellen zu dürfen:

Aether zieht das Colchicin aus saurer wässriger Lösung in weit geringerer Menge und mit geringerer Energie aus, als Chloroform und Amylalkohol; seine Ausziehungsfähigkeit erlischt bei geringerer Verdünnung, als die der beiden andern Genannten; man braucht von Chloroform, wie von Amylalkohol viel weniger, um mehr Colchicin auszuziehen, und wird dadurch zugleich fremden extractiven Stoffen ungleich viel weniger Gelegenheit geboten, sich mit aufzulösen.

Chloroform und Amylalkohol scheinen in ihrer Aufnahmefähigkeit für Colchicin aus saurer Lösung ziemlich gleich zu sein, vielleicht wirkt der Amylalkohol noch etwas kräftiger. Ich würde jedoch wegen der leichteren und angenehmeren Arbeit das Chloroform vorziehen.

Petroläther hat mir in den zwei Fällen (bei den Fäulnisproben und bei dem Kaninchen), wie ich versuchte, fremde

Stoffe vor der Anwendung von Aether zu entfernen, nichts geleistet.

Wenn im Aetherauszuge aus saurer wässriger Lösung ein Körper erscheint, der zwar eine Anzahl genereller Reactionen auf Alkaloid giebt, also Verdacht auf Colchicin erweckt, nicht aber die gesuchte Färbung mit Salpetersäure giebt, so rathe ich, noch mehrmals mit Aether auszuziehen, dann sämmtliches erhaltene (saure) Aetherextract in Wasser, noch besser in, mit ein wenig Ammon versetztem Wasser zu lösen und nun mit Chloroform zu schütteln, wo dann, wenn wirklich Colchicin vorhanden ist, seine charakteristische Salpetersäure-Reaction erzielt werden wird. Selbstverständlich darf diese Opferung sämmtlichen Materials nur dann geschehen, wenn im Aetherauszuge aus ziemlich saurer wässriger Lösung die allgemeinen Reactionen einigermaassen copios ausgefallen sind.

Gegen Fäulniss thierischer Substanz, wie auch gegen saure Gährung ist das Colchicin, wenigstens bis zu drei Monaten, sehr widerstandsfähig.

Nachschrift.

Beschäftigt mit den Arbeiten über Bier, welche demnächst in diesen Blättern erscheinen werden, fand ich, dass es unter Umständen, nemlich dann, wenn viele extractive Stoffe neben dem Colchicin in die Aether- oder Chloroformlösung übergehen, von Nutzen ist, den ganzen Vorrath des Aether- oder Chloroform-Extractes in Wasser zu lösen, wenn nöthig durch ein kleinstes Filter zu filtriren, dieses etwas nachzuwaschen und nun das Filtrat mit Gerbstoff zu fällen. Der Niederschlag wird dann gewaschen, mit Bleioxyd zersetzt und mit wässrigem Weingeist ausgezogen, wo dann das Colchicin auffallend rein zum Vorschein kommt. Ich hatte in fünf Liter Bier 0,1 g. Colchicin aufgelöst (50000 : 1). Vor der angegebenen Behandlung erschien weder in der Aether- noch in der Chloroform-Ausschüttelung die Reaction