

(Aus der Universitätsanstalt für Gerichtliche Medizin und Naturwissenschaftliche Kriminalistik, Jena. — Direktor: Prof. Dr. G. Buhtz).

## Spektrographische Bestimmung von Alkaloiden in Leichenteilen\*<sup>1</sup>.

Von

Dr. Heinz Scheller,

Physiker der Anstalt.

Mit 15 Textabbildungen.

### I. Zweck und Ziel der Untersuchungen.

a) Nach der chemischen Extraktion von Alkaloiden aus Leichenteilen läßt sich das vorliegende Gift häufig nicht sicher erkennen und vor allem mengenmäßig nicht genau bestimmen. Deswegen ist im Schrifttum verschiedentlich angeregt worden, neben den vom Chemiker meist zu Rate gezogenen physikalischen Erkennungsmethoden — wie Bestimmung der Schmelz- und Sublimationstemperatur, der Form und dem optischen Verhalten der Kristalle und deren Löslichkeit — die außerordentlich kennzeichnenden Absorptionserscheinungen im Ultraviolett zur Bestimmung von Alkaloiden zu verwenden. Zusammenhängend weist vor allem *H. Fischer*, Zürich<sup>2</sup>, in seiner Abhandlung: „Die physikalische Chemie in der gerichtlichen Medizin“ auf die Bedeutung der Absorptionsspektralanalyse von Alkaloiden in der Gerichtsmedizin hin. Er betont, daß die spektrographische Giftuntersuchung gegenüber der chemischen die gleichen grundlegenden Vorteile bietet wie jede physikalische Methode: denn der zu untersuchende Stoff bleibt in seiner Menge und seinen charakteristischen Eigenschaften erhalten und eine Bestimmung kann beliebig oft wiederholt werden. Außerdem werden die Untersuchungsergebnisse photographisch festgehalten und somit anschaulich dargestellt. Zwar ist nicht zu verkennen, daß die chemischen Nachweismethoden noch empfindlicher sind als die spektrographische. Diese aber läßt sofort quantitative Rückschlüsse zu und verhindert im Falle des Versagens nicht die weitere chemische Verarbeitung. Gelingt die spektrographische Alkaloidanalyse, so sind für den Chemiker zum mindesten wertvolle Hinweise für den Fortgang seiner Arbeit und Sicherstellung seiner Ergebnisse zu erwarten.

\* Dissertation der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Jena.

<sup>1</sup> Vortrag gehalten auf der 25. Tagung der Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin, 1936 in Dresden.

<sup>2</sup> *H. Fischer*, Zürich: Die physikalische Chemie in der gerichtlichen Medizin. Zürich: Verlag Rudolf 1925, S. 111 ff.

b) Aus den systematischen Arbeiten von *W. N. Hartley*, *V. Henri*, *J. E. Purvis*, *E. C. C. Baly*, *J. J. Dobbie*, *A. Lauder* u. a.<sup>1</sup> ist bekannt, daß reine Alkaloide charakteristische Absorptionsspektren im ultravioletten Strahlengebiet zeigen, die in gesetzmäßigem Zusammenhang mit ihrer Konstitution und den Spektren ihrer Grundverbindungen stehen. In der gerichtlichen Medizin kommen dagegen meistens Alkaloide zur Bestimmung, die aus Organteilen ausgemittelt worden und infolgedessen nicht vollkommen rein zu erhalten sind. Man muß stets damit rechnen, daß noch Spuren von Eiweißkörpern und ihren Abbauprodukten, von Dextrinen und ihren Polymerisaten gleichzeitig mit in die Alkaloidextrakte aus Leichenteilen gelangen. Wie schon aus der starken Fluorescenz solcher Verunreinigungen hervorgeht, ist eine Absorption von ultraviolettem Licht zu erwarten, die die typische Absorption der Alkaloide verändern oder vollständig überdecken kann. Auch ist es denkbar, daß die alkaloidhaltige Substanz nach dem chemisch-toxikologischen Analysengang zwar noch die kennzeichnenden chemischen Reaktionen gibt, aber doch in ihren optischen Eigenschaften so beeinflußt wird, daß ihre Absorption im Ultraviolett nicht mehr mit der von reinen Giften zu vergleichen ist.

c) Um nun die Art und Größe dieser Fehlerquellen, sowie ihre etwaige Gesetzmäßigkeit zu erkennen, und um möglichst einen Weg zur Vermeidung von Fehlern zu finden, wurde zunächst auf Tierversuche und organspezifische Unterscheidungen verzichtet. Denn solange die Beeinflussung der Alkaloide bei der Aufarbeitung von Leichenteilen nicht bekannt ist, kann man erst recht nicht die Veränderungen der optischen Eigenschaften verfolgen, die die Gifte im lebenden Organismus erleiden.

Man beschränkte sich also vorerst auf Modellversuche mit verschiedenen in der gerichtsärztlichen Praxis vorkommenden Pflanzengiften. Eingewogene Mengen davon wurden in wässriger Lösung zu tierischen Organen gegeben. Das Gemisch wurde dann dem vollständigen Trennungsgang nach *Stas-Otto* für Alkaloide unterworfen. Somit waren die Verhältnisse hergestellt, die bei der Alkaloidausmittlung vorkommen, ohne daß Veränderungen der Gifte durch physiologische Vorgänge zu berücksichtigen waren. Ein Vergleich der Absorptionsbanden reiner Gifte mit denen der extrahierten sollte dann Aufschluß über die Eigentümlichkeiten geben, die bei der spektrographischen Nachweismethode auftreten.

In diesem Rahmen genügte es — auch für anschließende Berechnungen — die Modellversuche mit handelsüblichen Alkaloiden ohne be-

<sup>1</sup> Umfassende Literaturangaben bei *H. Fischer*: Die physikalische Chemie in der gerichtlichen Medizin. S. XXI bis XXXIX und *Fr. Löwe*: Optische Messungen des Chemikers und Mediziners. S. 104—107.

sondere Reinigung anzustellen, weil beim Nachweis in Leichenteilen doch keine analysenreinen Stoffe anfallen und weil man sich in der gerichtlichen Begutachtung stets auf offizinelle Präparate bezieht.

## II. Grundlagen der spektrographischen Technik.

a) Um die Absorptionserscheinungen verschiedener Lösungen qualitativ und quantitativ vergleichen zu können, stellt man ihren Verlauf im ultravioletten Spektrum in Abhängigkeit von dem *Bunsen*-schen Extinktionskoeffizienten  $\varepsilon^*$  zeichnerisch dar. An Hand von photographischen Aufnahmereihen mit gesetzmäßig geänderten Schichtlängen der Lösungen erhält man Kurven, die die Lage und Stärke der Absorptionsbanden im Spektrum kennzeichnen, und zwar unabhängig von Schichtdicke und Konzentration.

Für die Berechnung der molaren Extinktion  $\varepsilon$  besteht die Beziehung

$$(1) \quad D = 10^{-\varepsilon c d}.$$

Dabei ist der photometrische Faktor, die Durchlässigkeit  $D = \frac{J_0}{J}$ , bei einem absorbierenden Mittel das Verhältnis von durchgelassener Lichtenergie  $J_0$  und auftreffender Energie  $J$ ;  $c$  ist die Molarkonzentration und  $d$  die Schichtdicke einer Lösung in Zentimeter. Obige Gleichung nach  $\varepsilon$  ausgedrückt lautet dann

$$(2) \quad \varepsilon = \frac{-\log D}{c \cdot d} = \frac{\log \frac{1}{D}}{c \cdot d}.$$

Zur Ermittlung der Durchlässigkeit  $D$  bringt man neben jede Absorptionaufnahme ein Spektrum der verwendeten Lichtquelle, jedoch unter Verringerung ihrer Intensität auf einen genau meßbaren Wert, z. B. auf  $\frac{1}{10}$  (s. S. 109).

Die Absorptionsspektren werden dann auf der Platte Stellen aufweisen, an denen sie ebenso stark geschwärzt sind wie die Vergleichsspektren. Dort beträgt also die Durchlässigkeit des absorbierenden Mittels  $D = \frac{1}{10}$ . Die Vergrößerung Abb. 1 zeigt einige solche Punkte.

Diese Stellen — nach Wellenlängeneinheiten bezeichnet — verwendet man mit den zugehörigen  $\varepsilon$ -Werten zur Aufstellung einer Extinktionskurve.

Logarithmiert man die Bestimmungsgleichung für  $\varepsilon$ :

$$(3) \quad \log \varepsilon = \log \frac{1}{c} + \log \frac{1}{d} + \log \log \frac{1}{D},$$

so hat man den Vorteil, daß Konzentration und Schichtdicke als additive Komponenten erscheinen. Besonders einfach findet man deshalb

\* *Fr. Löwe*: Optische Messungen des Chemikers und Mediziners. S. 33 ff.

für Lösungen mit der unbekanntem Konzentration  $c' = x \cdot c$  eine Kurve, die sich an allen Stellen nur um den konstanten Wert  $\log x$  von der molaren Extinktionskurve unterscheidet, d. h. die ihr parallel läuft.

b) Für den spektrographischen Alkaloidnachweis muß man demnach zuerst die Kurven der molaren Extinktion herstellen. Dazu wurden von den zur Untersuchung gewählten Giften je  $\frac{1}{1000}$  Mol, berechnet nach dem Molekulargewicht des handelsüblichen Salzes, auf zehntel Milligramm genau eingewogen. Diese verhältnismäßig großen Mengen, die zwischen 1 g und 0,1 g liegen, sind mit dest. Wasser auf 100 ccm aufgefüllt  $\frac{1}{100}$ -molar. Da die meisten Spektralaufnahmen mit  $\frac{1}{1000}$ -molaren Lösungen gemacht wurden, war die Genauigkeit der Testeinwaage ausreichend.

Ist für einige Alkaloide keine genaue empirische Formel anzugeben, oder bestehen die offizinellen Präparate aus Gemischen mit unbekanntem

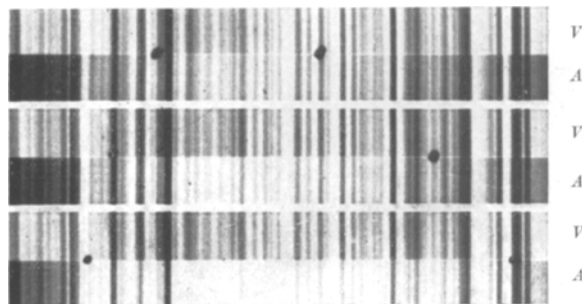


Abb. 1. Vergrößerung dreier Absorptionsspektren *A* und der gleichzeitig aufgenommenen Vergleichsspektren *V*. Die Punkte sind an den Stellen gleicher Schwärzung eingezeichnet.

Verhältnis der Anteile, so legt man der Einstellung reiner Lösungen eine beliebige runde Einwaage oder das dem Hauptanteil entsprechende Molekulargewicht zugrunde. Der Giftgehalt unbekannter Lösungen wird dann aus ihren Absorptionskurven nach den willkürlich als Einheit festgesetzten Mengen errechnet. Dieses Verfahren enthält keinerlei Ungenauigkeit, weil man sich bei der Bewertung der Untersuchungsergebnisse entweder auf den reinen Alkaloidkörper bezieht, oder, wenn keine eindeutige Definition dafür besteht, auf ein offizinelles Präparat.

Wie später noch gezeigt wird (s. S. 113), hat es sich bewährt, anstelle der Salze von Alkaloiden die Basen in alkoholischer Lösung spektrographisch zu untersuchen. Die Frage nach einer Giftmenge bezieht sich aber meistens auf die verhältnismäßig leichter zugänglichen, handelsüblichen und infolge ihrer Wasserlöslichkeit giftigeren Alkaloidsalze. Um diesen beiden Tatsachen gerecht zu werden, wurden  $\frac{1}{100}$ -molare Alkaloidsalzlösungen eingestellt und die freien Basen nach

Alkalisierung der wässrigen Flüssigkeit mit geeigneten organischen Lösungsmitteln ausgeschüttelt. Nach dem Eindunsten wurden die Rückstände mit Alkohol auf 100 ccm aufgefüllt. Die hieraus erhaltenen Absorptionenaufnahmen liefern dann Extinktionskurven, die in bezug auf die Alkaloidsalze molar sind.

c) Die spektrographischen Untersuchungen wurden mit dem Zeiss'schen Quarzspektrographen „Qu 24“ ausgeführt (Abb. 2 und 2a<sup>1</sup>).

Als Lichtquelle<sup>2</sup> wurde der stark kondensierte Funke zwischen Wolfram-Elektroden benutzt. Zur Anregung des Funkens diente eine Sonderschaltung des Funkenerzeugers nach *Feußner* für Gleichstrom: Ein Generator schickt über einen verstellbaren Widerstand bei 2,5 bis 3 Amp. Stromstärke einen 50-Perioden-Wechselstrom von etwa 140 Volt

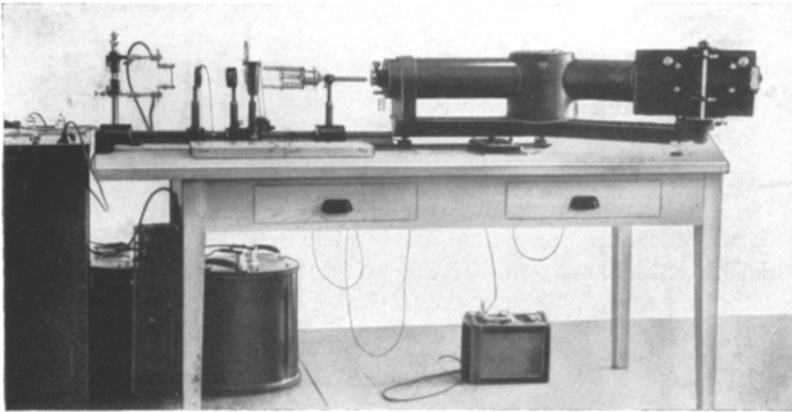


Abb. 2. Quarzspektrograph „Qu 24“ (C. Zeiss, Jena) mit Optik für Absorptionenaufnahmen.

auf die Primärseite eines Hochspannungstransformators, der den Strom auf 8000—12000 Volt umformt. Der Funkenstrecke sind, außer der eingebauten Kapazität von 3000 cm, noch zwei Plattenkondensatoren von zusammen 6000 cm parallelgeschaltet. Der für die Emissionsspektralanalyse notwendige rotierende Unterbrecher und die Selbstinduktionsspule sind kurzgeschlossen.

Der Abstand der Wolfram-Elektroden beträgt am besten 3 mm. Der übergehende Funke steht im Brennpunkt eines Quarzkondensors *Q* (Abb. 2a) mit 200 mm Brennweite und 56 mm Durchmesser, so daß ein paralleles Lichtbündel zwei Cuvetten nebeneinander gut ausleuchten kann.

<sup>1</sup> Der Apparat ist aus den Mitteln der Zeiss-Stiftung der Universitätsanstalt für gerichtl. Medizin und naturwissenschaftl. Kriminalistik Jena zur Verfügung gestellt worden.

<sup>2</sup> Siehe auch *Fr. Löwe*: Optische Messungen. S. 25 ff.

Die eine Cuvette wird mit der zu untersuchenden Lösung gefüllt, die zweite, gleichlange mit dem reinen Lösungsmittel, um dessen Eigenabsorption und die Lichtschwächung an den abschließenden Planplatten auszugleichen. Durch diese Anordnung arbeitet man einwandfrei unabhängig vom optischen Reinheitsgrad des Lösungsmittels.

Für wässrige Lösungen eignen sich sog. *Baly*-Rohre als Absorptionsgefäße mit meßbar veränderlicher Schichtdicke und eingekitteten Quarzfenstern. Bei ihrer Verwendung ist man imstande, eine Aufnahmereihe äußerst schnell zu belichten. Etwas umständlicher sind die Cuvetten nach *G. Scheibe* zu handhaben, bei denen auf Glasrohre bekannter Länge Quarzplättchen mit einer Fassung aufgepreßt werden (siehe

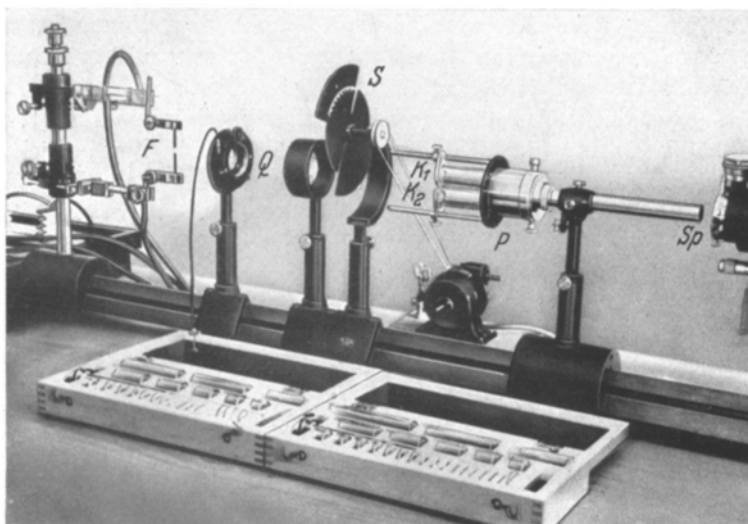


Abb. 2a. Optik für Absorptionaufnahmen; im Vordergrund 2 Sätze Scheibecuvetten.

Abb. 2a,  $K_1, K_2$ ). Zwar fallen hierbei Störungen durch die Löslichkeit der Verkittungsmasse weg; jedoch muß man für jede Aufnahme mit neuer Schichtdicke 2 Cuvetten füllen und zusammensetzen, was einen Zeitverlust bedeutet. Die Alkaloiduntersuchungen in Alkohol wurden mit 2 Sätzen Scheibecuvetten ausgeführt, deren Schichtlängen zur einfachen Berechnung von  $\log \frac{1}{d}$  logarithmisch abgestuft sind von  $\log d = -1,0$  bis  $+1,0$ , entsprechend 0,1 bis 10 cm. Die auf Seite 106 erwähnte photometrische Lichtschwächung des Vergleichsspektrums wird durch einen rotierenden Doppelsektor nach *Gade* erreicht (Abb. 2a, *S*). Er besteht aus einer größeren und einer kleineren Metallscheibe mit je 2 Ausschnitten von  $90^\circ$ . Die kleinere ist gegen die größere drehbar, so daß zwischen

den beiden Ausschnitten jedes beliebige Öffnungsverhältnis von 0 bis 100% hergestellt werden kann<sup>1</sup>.

Die Strahlengänge durch die beiden Cuvetten werden mit Hilfe eines *Hüfnerschen* Prismas in einer feinen Trennungslinie auf dem Spektrographenspalt abgebildet<sup>1</sup> (Abb. 2a), so daß Absorptions- und Vergleichsspektrum unmittelbar aneinander stoßen. Das Aufsuchen der Linien gleicher Schwärzung wird dadurch bedeutend erleichtert. Der Spalt wurde bei den Untersuchungen 0,05 mm breit gehalten. Die Spektrallinien erscheinen dann bei 10facher Vergrößerung für den photometrischen Vorgang genügend flächenhaft. Die Einrichtung zur Kassettenverschiebung erlaubt auf der Plattengröße von  $6 \times 24$  cm die Aufnahme von 16 Doppelspektren von 3 mm Höhe.

Die geringste Belichtungszeit betrug 60 Sekunden, die zur besseren Erfassung der Absorption unterhalb 2250 ÅE in Stufen von 10 zu 10 Sekunden höchstens auf 100 Sekunden gesteigert werden mußte. So konnten noch Spektrallinien bis 2100 ÅE und niedriger gut erkannt werden, was sich als ausreichend für den charakteristischen Absorptionsbereich der verwendeten Alkaloide erwies. Für alle Spektrogramme wurden Silber-eosinplatten  $\frac{10^0}{10}$  din von *Perutz* verwendet. Das im kurzwelligen Teil liegende Drittel wurde durch Verteilen einer feinen Schicht Vaselineöl sensibilisiert. Nach Entfernen der Ölschicht mit einem alkoholgetränkten Wattebausch wurden die Aufnahmen wie jede andere photographische Platte entwickelt und weiter behandelt.

d) Auf diese Weise wurden von jeder der eingestellten Alkaloidlösungen zuerst Übersichtsaufnahmen angefertigt, um zu bestimmen, bei welchen  $\log \varepsilon$ -Werten die kennzeichnenden Absorptionsbanden liegen. Es genügte meist, eine solche Übersicht über  $\frac{1}{1000}$ - und  $\frac{1}{100}$ -molare Lösungen zu erstrecken<sup>2</sup>. Dabei wurden zweckmäßig von den Stufen der Schichtdicke nur jede zweite oder dritte verwendet, so daß man einen großen Extinktionsbereich schnell auf einer Platte vereinigt übersehen konnte. Aus den Übersichtsaufnahmen ließ sich dann ablesen, daß in den meisten Fällen mit  $\frac{1}{1000}$ -molaren Lösungen gearbeitet werden konnte; wenige Male waren  $\frac{1}{2000}$ - oder  $\frac{1}{100}$ -molare Lösungen notwendig.

Mit den aus der Übersicht ablesbaren Größen wurde dann vom charakteristischsten Absorptionsbereich eine Hauptaufnahme mit 16 aufeinander folgenden Cuvetten angefertigt. Lag also das bemerkenswerte Gebiet z. B. zwischen  $\log \varepsilon = 3,8$  und  $2,3$ , so gestaltete sich das Aufnahmeschema mit  $c = \frac{1}{10^0}$  wie folgt<sup>3</sup>:

<sup>1</sup> Näheres siehe bei *Löwe*: Optische Messungen.

<sup>2</sup> Näheres in der unveröffentlichten Originalarbeit.

<sup>3</sup> Ausführliche Tabellen in der Druckschrift der Fa. C. Zeiß, Jena: Mess. 452 III, Gebrauchsanweisung zum Spektrograph für Chemiker.

$d$ cm =	0,159	0,20	0,25 . . . . .	3,98	5,01
$\log d$ =	-0,8	-0,7	-0,6 . . . . .	0,6	0,7
$\log \frac{1}{d}$ =	0,8	0,7	0,6 . . . . .	-0,6	-0,7
$\log \varepsilon$ =	3,8	3,7	3,6 . . . . .	2,4	2,3

Die Stellen gleicher Schwärzung in den Doppelspektren wurden nun mit Hilfe einer 10fachen Binokularlupe (Zeiss, Jena) möglichst genau aufgesucht und durch feine Punkte gekennzeichnet (Abb. 3).

Dazu lagen die Platten zweckmäßig auf einer Milchglasscheibe, die von unten gleichmäßig beleuchtet wurde. Die Lage der Punkte wurde an den Spektrallinien der anderen Aufnahmen bis zur aufkopierten Wellenlängenskala verfolgt und die abgelesenen Werte in *Angström*-Einheiten beim zugehörigen  $\log \varepsilon$ -Wert in das Arbeitsschema einge-

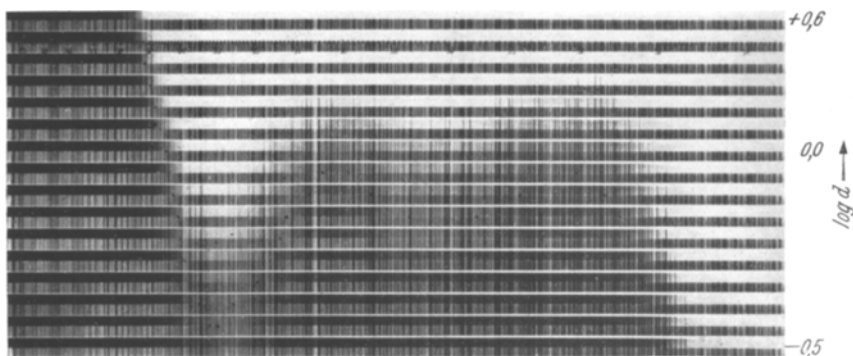


Abb. 3. Absorptionaufnahme von Chinin-Hydrochlor. in Wasser  $\frac{1}{2000}$ -molar.  $\log d = -0,5$  bis  $+0,6$ .

tragen. Zur Aufstellung der Extinktionskurve wurden auf Millimeterpapier waagrecht die Wellenlängen aufgetragen und senkrecht die Logarithmen von  $\varepsilon$ , die sich aus der jeweiligen Schichtdicke, der Konzentration und dem Schwächungsverhältnis des Sektors berechnen lassen.

Man erhält somit von jedem Alkaloid ein anschauliches Bild und ein vergleichbares Maß für seine Absorption im Ultraviolett. Die Abb. 4 und 5 zeigen die Absorptionskurven von 8 Alkaloiden und 2 Schlafmitteln.

Es ist deutlich zu erkennen, wie stark sie sich in der Form und Lage im Spektrum sowie in der Intensität ihrer Absorptionsbanden unterscheiden. Lediglich die Kodeinkurve läuft der des Morphins fast parallel, wahrscheinlich weil sie chemisch nur in der Methylgruppe des Kodeins voneinander abweichen. Bemerkenswert ist noch, daß die beiden Schlafmittel als einfachere chemische Körper ohne Ring-Doppelbindungen in



Alkohol löst eine starke, aber durchaus untypische Absorption in dem zur Untersuchung gelangten Bereich aufweisen; sie wurden nicht zu weiteren Versuchen verwendet. Für die Auswahl der aufgezählten Alkaloide war maßgebend, daß sie verschiedenen Gruppen zugehören und für die gerichtsärztliche Praxis einigermaßen bedeutungsvoll sein sollten. So sind aus der Chinolin- und der Morphingruppe je zwei, aus der Atropin- und der Cocaingruppe je ein Alkaloid vertreten, außerdem ein Ersatzpräparat, Novocain, und ein Pflanzengift, Veratrin, von nicht

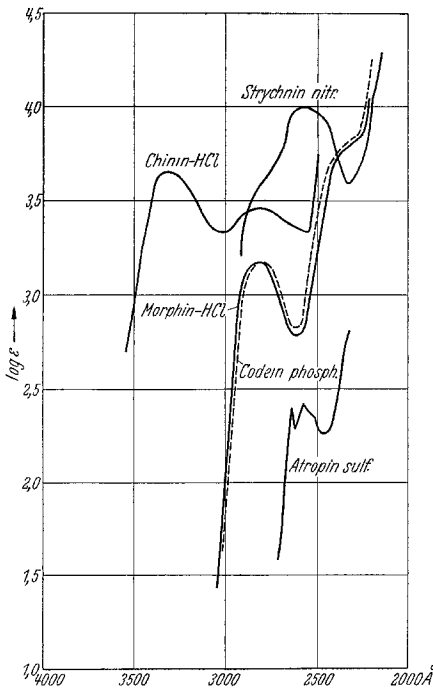


Abb. 4. Molare Extinktionskurven von 1. Chinin-HCl, 2. Strychnin-nitr., 3. Morphin-HCl, 4. Codein-phosph., 5. Atropin-sulf.

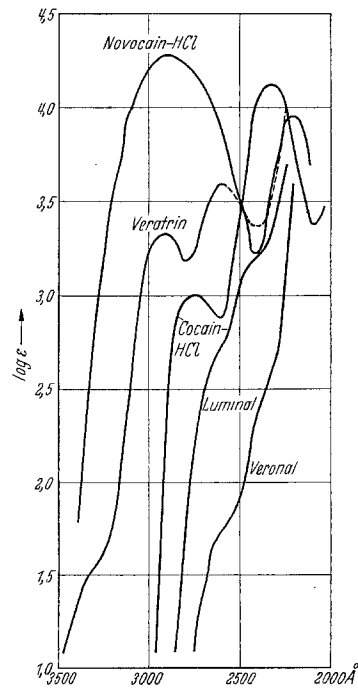


Abb. 5. Molare Extinktionskurven von wässrigen Lösungen von 1. Novocain-HCl, 2. Cocain-HCl und von alkoholischen Lösungen von 3. Veratrin, 4. Luminal und 5. Veronal.

genau festliegender Zusammensetzung. Während für alle rein darstellbaren Gifte das Molekulargewicht der Einstellung zugrunde gelegt wurde, konnte für das Gemisch Veratrin nur die Formel  $C_{32}H_{49}O_9N$  aus dem Deutschen Arzneibuch (6. Ausgabe 1926) verwendet werden.

Die Absorptionskurven der wässrigen Alkaloidsalzlösungen schienen vorerst zum Vergleich für spätere Giftuntersuchungen zu genügen. Nach einem toxikologischen Trennungsgang waren von seiten einer Lösung der Ausschüttelrückstände in angesäuertem Wasser keine Schwierigkeiten für den spektrographischen Nachweis zu erwarten. Da-

bei wurde jedoch nicht berücksichtigt, daß ein geringer Säureüberschuß, der den Chemiker bei der Alkaloidbestimmung keinesfalls stören würde, mit der anderen Ionisation eine ganz andersartige Absorption bewirken kann, als in neutraler Lösung. In Abb. 6 soll an einem Beispiel diese Erscheinung gezeigt werden.

Dargestellt ist die Kurve 1 des reinen Chinin-HCl, 2. einer salzsauren Chininlösung aus Organteilen extrahiert und 3. derselben Lösung nach sorgfältiger Neutralisation. Es ist einleuchtend, daß die Abweichung der Kurven der sauren und der neutralen Lösung zu Fehlschlüssen führen kann. Um nun den Fehlerquellen, die saure Lösungen bieten, und um der Schwierigkeit einer genauen Neutralisation aus dem Wege zu gehen, wurden für alle folgenden Untersuchungen als Vergleichskurven diejenigen der reinen Alkaloidbasen in alkoholischer Lösung gewählt (s. S. 107). Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Absorptionskurven der Salze und der Basen besteht nicht. Die der Alkaloidbasen sind meist in ihren Extremen etwas ausgeprägter und liegen eine Kleinigkeit höher. Diese Eigenschaften bedeuten also ein noch charakteristischeres Absorptionsspektrum, demnach einen weiteren geringen Vorteil für den spektrographischen Nachweis extrahierter Alkaloide.

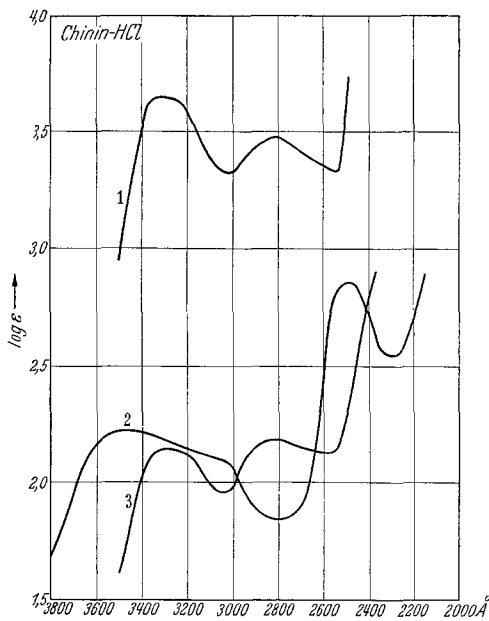


Abb. 6. Extinktionskurven 1. des reinen Chinin-HCl, 2. einer salzsauren Chininlösung aus Organteilen extrahiert und 3. derselben Lösung nach sorgfältiger Neutralisation.

e) Nachdem nun die Technik der Absorptionsspektren im Ultraviolett als Grundlage für die spektrographische Bestimmung von Alkaloiden in Leichenteilen in der beschriebenen Weise entwickelt worden ist, erhebt sich die Frage, ob das Arbeitsverfahren für die erforderlichen Versuche eine ausreichende Genauigkeit besitzt. Deswegen sollen alle vorkommenden Fehlerquellen besprochen werden: Abweichungen in der Belichtungszeit und Schwankungen der Lichtquelle spielen in weiten Grenzen keine Rolle, weil Vergleichs- und Absorptionsspektren zu gleicher Zeit belichtet werden. Außerdem bleibt das Schwächungsverhältnis des Sektors für alle Spektren konstant. — Die Eigen-

absorption eines Lösungsmittels wird einwandfrei kompensiert durch Verwendung gleichlanger Cuvetten für Lösung und Lösungsmittel. In diesen Punkten ist also das Verfahren fehlerfrei.

Eine meist leicht zu beseitigende Fehleinstellung des Sektors um  $+1^\circ$  ändert das Öffnungsverhältnis aus  $D = \frac{180}{10} = 18$  in  $D' = \frac{180}{19} = 9,47$ . Dann ergibt sich für  $\log \log \frac{1}{D} = \log 0,955 = 0,98 - 1 = -0,02$  anstatt 0,0.

Auf Millimeterpapier, bei dem jedes Zehntel von  $\log \varepsilon$  10 mm einnimmt, würde also eine Kurve nur um 0,2 mm nach oben verschoben sein — ein Betrag, der an der Grenze der Zeichengenauigkeit liegt.

Eine große Fehlerquelle scheint zunächst in der subjektiven Bestimmung der Stellen gleicher Schwärzung zu liegen, jedoch gelingt es nach einiger Übung gut, die betreffenden gleichdunklen Linien zu finden. Vor allem die beginnende Absorption im langwelligen Ultraviolett ist meistens an sich scharf und wird durch die geringe Dispersion noch deutlicher, so daß man oft eine einzige Spektrallinie oder den Raum zwischen zwei als richtige Stelle ansprechen kann. Eine verwaschene Absorption bei Extremen oder bei flachem Verlauf der Auslöschung spielt im Gebiet höherer Dispersion keine wesentliche Rolle, weil eine sehr hoch veranschlagte Fehlablesung von 10 ÅE in der Kurve unter 1 mm liegt, wenn 100 ÅE durch die Länge von 10 mm dargestellt werden. In Zweifelsfällen kann man mit dem Spektrallinienphotometer (Zeiss, Jena) die fragliche Stelle genauer bestimmen.

Daß die photometrierten Punkte nach der nicht vollständig justierbaren Wellenlängenskala abgelesen und nicht nach den *Wolfram*-Linien bezeichnet werden, scheint zu Fehlern zu führen. Jedoch verschiebt sich durch die Dejustierung der Skala um  $\pm 3$  ÅE bei obigem Zeichenmaßstab die Kurve um nur  $\pm 0,3$  mm, was den Gesamtverlauf keinesfalls beeinträchtigt. Zur Prüfung der Genauigkeit wurden verschiedene Gifte mehrmals spektrographisch untersucht. Nicht nur dieselbe Lösung wurde zu verschiedenen Aufnahmen verwendet, sondern es wurden auch neue molare Mengen eingewogen, gelöst und nach Alkalisierung ausgeschüttelt und spektrographiert. Zum großen Teil waren die Kurven völlig gleich. Soweit Abweichungen vorkamen, betrugten sie durchschnittlich nur  $\pm 1$  mm, was einem Fehler von  $\pm 2,3\%$  der Lösung entspricht. Das ist bei Alkaloidmengen von rund 40 mg als geringfügig zu bezeichnen.

Der bedeutendste Fehler des Verfahrens besteht darin, daß sich ein Extremwert einer Kurve nicht exakt bestimmen läßt, wenn er zwischen zwei Stufen von  $\log \varepsilon$ -Werten liegt. Bei Verwendung von Balyrohren könnte man durch Aufnahmen mit Schichtdicken zwischen zwei Zehnteln von  $\log d$  weitere Kurvenpunkte erhalten. Bei Scheibecuvetten mit feststehender Länge, die sich wegen ihrer Unempfindlichkeit gegen

alle Lösungsmittel als unentbehrlich erwiesen haben, ist das nicht möglich. Jedoch kann man aus der Aufnahme, die sich an das Spektrum mit den letzten zu ermittelnden Punkten eines Extremwertes anschließt, meistens ablesen, ob die Absorptionskurve bis in die Nähe des nächstfolgenden  $\log \varepsilon$ -Wertes zu ziehen ist, oder ob sie in der Nähe der gefundenen Punkte ihr Maximum erreicht. Im ersten Fall gibt es im nebenliegenden Doppelspektrum zwischen Absorptions- und Vergleichsaufnahme Linien mit beinahe gleicher Schwärzung; im anderen sind alle Linien deutlich verschieden dunkel. Außerdem kann man erfahrungsgemäß immer mit einem stetigen Absorptionsverlauf rechnen, der ein zu starkes Verzeichnen eines Extremums unwahrscheinlich macht. Das hat sich öfters bestätigt, wenn aus einer Übersichtsaufnahme bereits eine Kurve gezeichnet worden war und man die ausgelassenen  $\log \varepsilon$ -Werte nachträglich aus der Hauptaufnahme ergänzte. Es war dabei oft erstaunlich, welche geringen Abweichungen zwischen der Kurve mit  $\log \varepsilon$ -Stufen von zwei Zehnteln und der genaueren bestanden. In keinem Falle erschien die Absorptionskurve wesentlich verändert.

Nimmt man die Abweichung eines gezeichneten vom wahren Extremwert zu  $\pm 3$  mm an, so entspricht das für die Konzentrationsbestimmung auf Grund von Extinktionskurven einem Faktor von 1,073. Die Abstufung der Cuvettengrößen nach ganzen Zehnteln von  $\log d$  hat sich demnach als ausreichend erwiesen; und in Anbetracht der einfachen und schnellen Ausführung der spektrographischen Alkaloidbestimmung fallen die dem Verfahren anhaftenden Fehlerquellen kaum ins Gewicht.

An dieser Stelle ist auch die Frage nach der unteren Grenze der spektrographischen Nachweisbarkeit für jedes einzelne Alkaloid zu beantworten. Ganz allgemein ist es verständlich, daß Stoffe mit hoher molarer Absorption noch in kleineren Mengen optisch erfaßt werden können, als solche mit geringer Absorption. Dann ist noch zu berücksichtigen, daß bei einem vorgegebenen Cuvettensatz wenigstens so viel Flüssigkeit zur Verfügung stehen muß, daß die größte Schichtlänge gefüllt werden kann. Die Konzentration der Lösung muß dann wenigstens so groß sein, daß mit der längsten Cuvette gerade noch eine Absorption unterhalb des typischen Kurvenverlaufs erreicht wird. Die Nachweisbarkeitsgrenze errechnet sich also aus der Höhenlage der molaren Extinktionskurve und aus Gerätekonstanten.

Bei Verwendung des *Scheibeschenschen* Cuvettensatzes braucht man für das größte Rohr von 10 cm Länge 18 ccm Flüssigkeit. Eine Substanz muß also in wenigstens 20 ccm gelöst sein. Ist nun eine Giftmenge derart gering, daß beim Lösen in nur 20 ccm mit einer Schichtlänge von 10 cm die für die typische Absorption notwendige Konzentration

erreicht wird, dann ist  $c = \frac{1}{20}$ ,  $d = 10$  cm; und für  $D = \frac{1}{10}$  errechnet sich der Log. der Extinktion nach Formel (3) zu:

$$\log \varepsilon = \log 20 + \log \frac{1}{10} + \log \log \frac{1}{D},$$

$$\log \varepsilon = 1,3 - 1,0 + 0,$$

$$\log \varepsilon = 0,3.$$

Demnach muß für den spektrographischen Alkaloidnachweis so viel Gift vorhanden sein, daß für die Extinktion bei  $d = 10$  cm wenigstens der Wert  $\log \varepsilon = 0,3$  erreicht wird; mit den kleineren Schichtlängen ist dann der gesamte Kurvenverlauf zu erhalten. Auf das Absorptionsvermögen der acht untersuchten Alkaloide umgerechnet, ergeben sich als kleinste optisch nachweisbare Mengen folgende:

für Chinin-HCl . . . . .	0,396 mg	Atropin-sulf. . . . .	8,75 mg
„ Strychnin-nitr. . . . .	0,315 „	Cocain-HCl . . . . .	1,075 „
„ Morphin-HCl . . . . .	1,5 „	Novocain-HCl . . . . .	0,343 „
„ Codein-phosph. . . . .	1,96 „	Veratrin . . . . .	0,938 „

Im allgemeinen dürften diese unteren Grenzwerte ausreichen. Sie liegen für alle Gifte unter der letalen Dosis. Jedoch können sie noch verringert werden durch Absorptionsgefäße mit kleinerem Durchmesser, weil man dann geringe Spuren noch weniger zu verdünnen braucht. Eine Vergrößerung des Öffnungsverhältnisses  $D$  des rotierenden Sektors würde ebenfalls noch kleinere Extinktionen nachweisen lassen.

### III. Spektrographische Untersuchungen von Alkaloiden, die aus Organenteilen extrahiert worden sind.

a) Die Modellversuche zur spektrographischen Alkaloidbestimmung wurden dadurch vereinheitlicht, daß für jedes Gift ein Gemisch von ungefähr gleichen Teilen Leber, Niere, Herz, Gehirn und Milz vom Kalb oder Schwein zur Untersuchung kam. Auf Magen mit Inhalt, sowie auf Harn wurde verzichtet, weil der Alkaloidnachweis durch hierin vorkommende Stoffe nicht wesentlich gestört wird. Die Organe wurden im Fleischwolf zerkleinert und von der durchgemischten Masse 160—200 g zu jedem Versuch verwendet. Die Gifte wurden in Wasser gelöst dem Organbrei zugesetzt. Weil vorerst der Wert nicht auf den Nachweis von Spuren gelegt, sondern die Brauchbarkeit des Verfahrens überhaupt geprüft werden sollte, wurden ziemlich hohe Mengen von rund  $\frac{1}{100}$  Mol eingewogen, und zwar von

Chinin-HCl . . . . .	0,4 g	Atropin-sulf. . . . .	0,563 g
Strychnin-nitr. . . . .	0,4 g	Cocain-HCl . . . . .	0,35 g
Morphin-HCl . . . . .	0,4 g	Veratrin . . . . .	0,6 g

Veratrin wurde in Alkohol gelöst.

Die Trennungsgänge wurden nach den Vorschriften von *Stas-Otto*<sup>1</sup> vorgenommen: dabei wird das schwach schwefelsaure Material mit der 3—4fachen Menge 96proz. Alkohol etwa 3 Stunden bei 60° erwärmt und öfters umgeschüttelt. Die Flüssigkeit wird nach dem Erkalten durch Tuch oder mehrere Lagen Mull filtriert und der leicht ausgepreßte Rückstand nochmals mit Alkohol extrahiert. Der Alkohol wird dann bei etwa 60° abgedampft und die verbleibende wässrige Lösung kalt filtriert. Das Filtrat wird bei mäßiger Temperatur zum Sirup eingedunstet, den man so lange mit absolutem Alkohol versetzt, bis kein Niederschlag mehr ausfällt. Nach dem Filtrieren wird der Alkohol auf dem Wasserbad entfernt, zuletzt unter Zugabe von etwas Wasser. Der saure wässrige Extrakt wird, wenn nötig, nochmals filtriert und im Schütteltrichter mit Benzin und Äther von Fettresten befreit. Je nach Vorschrift wird die Alkaloidlösung mit Natronlauge, Soda oder Bicarbonat alkalisiert und mit einem geeigneten organischen Lösungsmittel, meistens Äther oder Chloroform, ausgeschüttelt.

Zur spektrographischen Untersuchung wurden dann entweder die Ausschüttelungsrückstände unmittelbar in 100 cem abs. Alkohol gelöst, oder sie wurden zur Reinigung mit säurehaltigem Wasser aufgenommen und nochmals aus alkalischer Lösung ausgeschüttelt.

Zur Technik soll noch bemerkt werden, daß es sich empfiehlt, die außerordentlich langsam filtrierenden, schleimigen Niederschläge abzusaugen. Um jedoch ein vorzeitiges Verstopfen der Poren zu vermeiden, wurde mit gutem Erfolg eine 8fache Schicht Mull auf die Filtrierpapiere gelegt. Weiterhin erwies es sich als vorteilhaft, den Fortschritt der Reinigung und der Giftextraktion im Schütteltrichter durch Beobachtung der Fluoreszenz im ultravioletten Licht zu verfolgen. Denn die Fluoreszenz steht in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Absorptionsvermögen, das untersucht werden soll. Anschließend sollen einige Einzelheiten aus der chemisch-toxikologischen Aufarbeitung gebracht werden:

Für *Chinin* wurde der beschriebene Analysengang eingehalten ohne zweite Reinigung des Ätherrückstandes.

Bei *Strychnin*, das ebenso aufgearbeitet wurde, fluorescierte die erste Chloroformausschüttelung noch stark gelbgrün. Deren Rückstand, in salzsaurem Wasser gelöst, wurde mehrmals mit Chloroform gereinigt. Es war deutlich zu erkennen, wie die Verunreinigung mit hellgrüner Fluoreszenz in das Lösungsmittel überging und die saure Lösung nur noch hellblau leuchtete. Nach deren Alkalisierung erhielt man beim Ausschütteln mit Chloroform eine fast reine Strychninlösung mit sehr schwacher grauer Fluoreszenz, deren Rückstand in Alkohol gelöst zur spektrographischen Aufnahme diente.

Weil man bei der Bestimmung von *Morphin* in der Praxis mit einer Veränderung im Organismus zu rechnen hat, wurde hierfür ein spezieller Trennungsgang nach *Marquis*<sup>2</sup> für „umgewandeltes Morphin“ ausgeführt: Der mit Wasser etwas verdünnte Organbrei wurde mit Salzsäure schwach angesäuert und auf dem siedenden Wasserbad etwa 10 Minuten erwärmt. Mit Ammoniak wurde fast bis zur Neutralisation versetzt, heiß durch ein Tuch filtriert und noch 2mal mit heißem Wasser nachgewaschen. Nach dem Eindunsten wurden die störenden Beimengungen 3mal abwechselnd mit Alkohol und Wasser ausgefällt und abfiltriert. Die letzte salzsaure Lösung wurde mit Äther weiter gereinigt. In bicarbonat-alkalischer Lösung wurde dann das Morphin etwa 12mal mit kleinen Mengen Chloroform ausgeschüttelt. Eine spezielle Reinigung des Chloroformrückstandes nach *Rußwurm*<sup>3</sup> hat sich als ungeeignet erwiesen. Die Entfernung

<sup>1</sup> *J. Gadamer*, Lehrbuch der chemischen Toxikologie. Göttingen 1924, S. 365 u. a. — <sup>2</sup> Ebenda S. 545 ff. — <sup>3</sup> Ebenda S. 545.

der Verunreinigungen gelang besser durch Aufnehmen der Morphinkristalle in salzsaurem Wasser und häufiges Ausschütteln mit heißem Chloroform. Trotzdem war die alkoholische Lösung, mit der die spektrographische Aufnahme gemacht wurde, noch gelb gefärbt und fluorescierte stark blaugrau.

Die *Atropin*extraktion wurde nach der allgemeinen Vorschrift ausgeführt. Die letzte saure Lösung wurde je 2mal mit Benzin, Äther und Chloroform gereinigt und das Alkaloid in bicarbonat-alkalischer Lösung 10mal mit Äther ausgeschüttelt. Aus der stark hellblau fluorescierenden Lösung des Ätherrückstandes wurde Atropin durch wiederholtes Ausschütteln mit Äther ziemlich rein erhalten, so daß die alkoholische Lösung nur noch schwach bläulichweiß fluorescierte.

Die Ausmittelung von *Cocain* bot keine besonderen Schwierigkeiten. Die letzte saure Lösung wurde mit Benzin und Äther gereinigt. Die mit geglühtem Natriumsulfat getrocknete Ätherausschüttelung der bicarbonat-alkalischen Flüssigkeit hinterließ einen ungefärbten, lackartigen Rückstand, der mit wenig Alkohol sehr gute Kristalle bildete. Deren Lösung in Alkohol fluorescierte nur schwach violettweiß, so daß die spektrographische Aufnahme damit ohne weitere Reinigung erfolgen konnte.

Bei *Veratrin* wurde ebenfalls nach der Vorschrift von *Stas-Otto* gearbeitet. Der letzte saure Extrakt wurde nur mit Benzin und wenig Chloroform gereinigt, weil hierbei schon etwas Veratrin verlorengehen kann. In soda-alkalischer Lösung wurde das Gift ausgeschüttelt. Der Rückstand in schwefelsaurem Wasser gelöst fluorescierte infolge von Verunreinigungen stark grünlich-weiß. Diese gingen vor allem in das Chloroform, wie man im ultravioletten Licht gut beobachten konnte. Die abermalige Ausschüttelung der alkalisch gemachten Lösung fluorescierte in Alkohol noch stark bläulichweiß. Trotzdem wurde sie spektrographisch untersucht.

Bei allen Trennungsgängen wurde der Hauptwert auf einen gewissen Reinheitsgrad der Gifte gelegt, ohne Rücksicht auf die Ausbeute. Allerdings sollte die Reinigung nicht übertrieben werden, um in den normalen Grenzen des toxiologischen Arbeitsganges zu bleiben. So wurde zwar möglichst verlustarm gearbeitet, aber doch hier und da das mehrfache Auswaschen oder Trockensaugen eines gel-artigen Niederschlages unterlassen, um nicht mehr störende Beimengungen als Alkaloid zu erhalten. Die Anzahl der Ausschüttelungen wurde deswegen ebenfalls nicht mehr gesteigert, als der jeweiligen Giftlöslichkeit entsprach.

b) Die alkoholischen Lösungen der auf diese Weise erhaltenen Alkaloidextrakte wurden ebenso wie die reinen Gifte spektrographisch untersucht. Auf Grund von Übersichtsaufnahmen bestimmte man den  $\log \epsilon$ -Bereich, der die kennzeichnende Absorption enthält. Da die Gifteinwaagen in der gleichen Größenordnung von  $\frac{1}{100}$  Mol lagen, wie bei der Aufstellung der molaren Kurven, genügte die auf 100 ccm aufgefüllte Lösung und deren 10fache Verdünnung, um das Absorptionsgebiet sicher zu erfassen. In den hiernach angefertigten Hauptaufnahmen wurden dann die Stellen gleicher Schwärzung ermittelt und daraus die Extinktionskurven gezeichnet. Man begnügte sich nun nicht nur damit, diese als den molaren Kurven ähnlich zu erkennen, sondern sie wurden sofort in eine quantitative Beziehung zu den Kurven der reinen Gifte gesetzt.

Für die unbekanntten Alkaloidmengen wurde deswegen zur Berechnung von  $\log \epsilon$ , das jetzt nicht mehr die molare Extinktion bedeuten kann, zweckmäßig für die Lösung in 100 ccm die Konzentration  $c = \frac{1}{100}$

und für deren 10fache Verdünnung  $c = \frac{1}{10000}$  angenommen. War der Alkaloidgehalt kleiner als die angenommenen Konzentrationen, so trat die typische Extinktion der Flüssigkeit erst bei größeren Schichtlängen, d. h. bei kleineren Werten von  $\log \frac{1}{d}$  ein. Die Absorptionskurven lagen infolgedessen nach unten verschoben. Der Abstand  $\log x = \log \varepsilon_{\text{molar}} - \log \varepsilon_x$  zwischen der molaren und der gefundenen Kurve ist dann der Logarithmus des Konzentrationsunterschiedes, also:

$\frac{c_{\text{molar}}}{c_x} = x$ . Hieraus läßt sich die gefundene Giftmenge in Milligramm

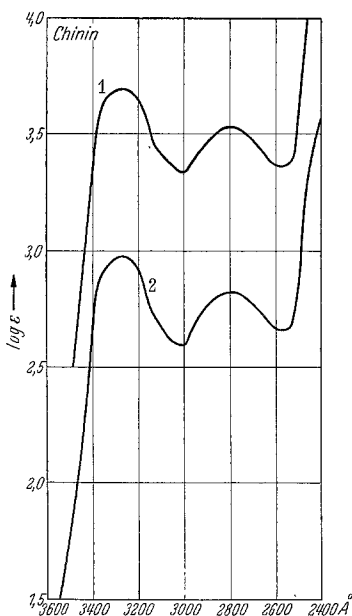


Abb. 7. Extinktionskurven von (1) reinem und (2) extrahiertem *Chinin*.

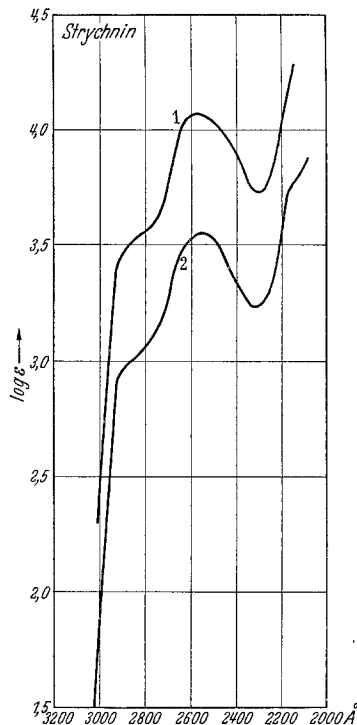


Abb. 8. Extinktionskurven von (1) reinem und (2) extrahiertem *Strychnin*.

berechnen. Je nach dem Grade der Reinheit und der Ausbeute lagen die Absorptionskurven der extrahierten denen der reinen Gifte im günstigsten Falle parallel, oder sie zeigten doch eine unverkennbare Ähnlichkeit. In den folgenden Abb. 7—12 stellt (1) die molare Extinktionskurve und (2) die des Organextraktes dar.

Eine besonders gute Übereinstimmung zwischen der Absorptionskurve der molaren (1) und der extrahierten Lösung (2) ergab sich bei *Chinin* (Abb. 7). Trotz des langwierigen Trennungsganges und der nicht zu vermeidenden Verunreinigungen sind die beiden Kurven als identisch zu bezeichnen. Die Extrema haben durchschnittlich einen Abstand  $\log x = 0,7$ . Es ist also  $x = 5$  und  $c_x = \frac{c_{\text{molar}}}{5}$ .



In dem auf 100 cem aufgefüllten Extraktionsrückstand befinden sich demnach 20% der  $1/100$ -molaren Lösung. Das entspricht bei einem Molekulargewicht von 396,7 einer Menge von 79,4 mg Chinin-HCl. Bei der Einwaage von 400 mg wurden also nur 19,9% gefunden. Jedoch wird nochmals betont, daß zugunsten der Reinheit vorerst kein Wert auf hohe Ausbeute gelegt werden sollte.

Die Ausmittlung von *Strychnin* ließ sofort ein ebenso brauchbares Ergebnis erkennen (Abb. 8). Die Kurve (2) stimmt in allen Einzelheiten mit der molaren überein. Sie liegt 0,48 Einheiten niedriger. Für  $\log x = 0,48$  ist  $x = 3,02$  und  $c_x = \frac{c_{\text{molar}}}{3,02}$ . Das entspricht 33% der  $1/100$ -molaren Lösung mit dem Molekulargewicht 397,2 oder 132 mg Strychnin-nitr. Bei 400 mg Einwaage betrug also die Ausbeute 32,8%.

Eine bedeutende Entstellung hat sich bei der Ausmittlung von *Morphin* ergeben (Abb. 9). An Stelle des steilen Anstieges erhält man eine starke Verflachung nach dem langwelligen Gebiet.

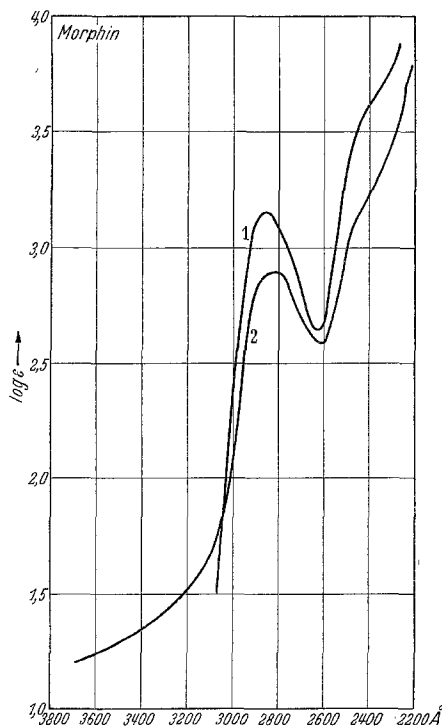


Abb. 9. Extinktionskurven von (1) reinem und (2) extrahiertem *Morphin*.

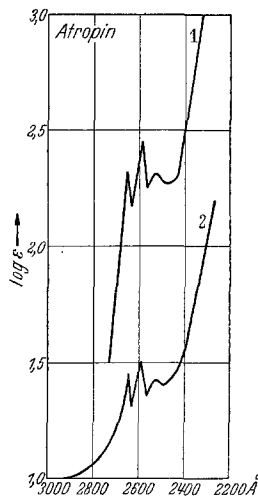


Abb. 10. Extinktionskurven von (1) reinem und (2) extrahiertem *Atropin*.

Extrema von (2) sind nach dem kurzwelligen Teil verschoben und ihr Abstand ist geringer als bei (1). Die typische Verflachung bei 2350 Å ist jedoch erhalten geblieben. Trotzdem ist eine Verwechslung mit einem der anderen untersuchten Gifte, außer mit Codein, ausgeschlossen. Zur quantitativen Bestimmung wird ein Mittelwert aus dem Abstand zwischen (1) und (2) an 3 Stellen: am Maximum, an der Verflachung bei 2350 Å und am steilen Anstieg bei 2950 Å verwendet. Wie durch spätere Untersuchungen festgestellt worden ist, eignet sich das Minimum nicht zur Berechnung, weil es besonders stark verzerrt ist. So erhält man  $\log x = 0,32$  und  $x = 2,09$ . Bei dem Molekulargewicht von 375,7 und einer Einwaage von 400 mg hat man mit 180 mg gefundenem *Morphin*-HCl eine Ausbeute von 45%.

Trotz eines Verlustes von etwa 25% im Analysengang erhielt man für *Atropin* eine Extinktionskurve, die überraschende Ähnlichkeit mit der des reinen Alkaloids

hatte (Abb. 10). Auch ein ziemlich hoher Gehalt an verunreinigenden Stoffen verflacht nur die steilen Anfangs- und Endteile der Kurve, läßt aber die charakteristischen Spitzen an den richtigen Stellen im Spektrum erkennen. Lediglich das Maximum bei 2580 ÅE ist im Vergleich zu den anderen Extremen weniger ausgeprägt, und das Minimum bei 2475 ÅE etwas flacher und nach 2490 ÅE gerückt. Die beiden Kurven haben den Abstand  $\log x = 0,88$ . Demnach ist  $x = 7,58$ , entsprechend 91,5 mg Atropin-sulf. Bei dem Molekulargewicht von 694,5 und der Einwaage von 563 mg ergab sich eine Ausbeute von 16,2%.

Für *Cocain* ist der spektrographische Nachweis ebenfalls als gelungen zu betrachten (Abb. 11). Nur der Abstand der Extrema von (2) ist um 0,05  $\log \varepsilon$ -

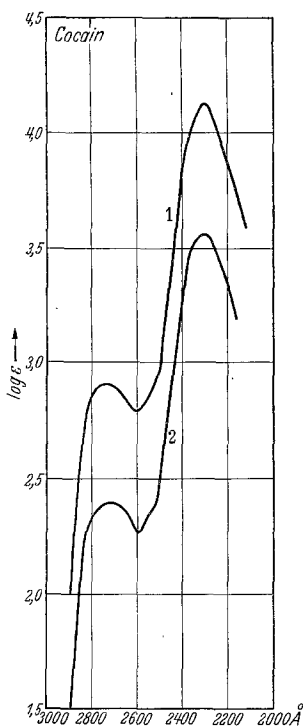


Abb. 11. Extinktionskurven (1) von reinem und (2) von extrahiertem *Cocain*.

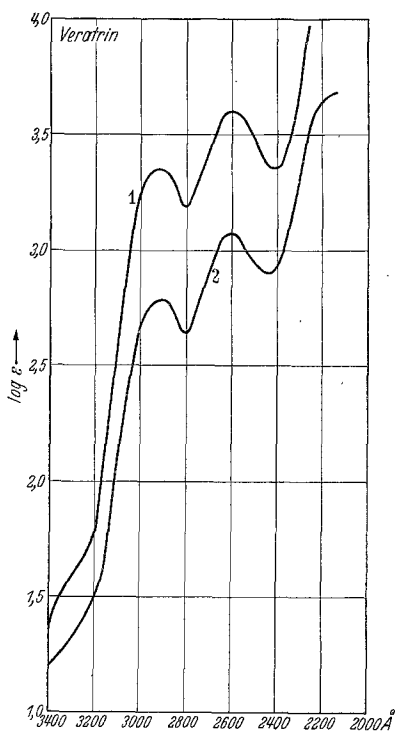


Abb. 12. Extinktionskurven (1) von reinem und (2) von extrahiertem *Veratrin*.

Einheiten kleiner als in der molaren Kurve (1). Im Durchschnitt ist  $\log x = 0,52$ . Bei dem Molekulargewicht von 339,6 errechnen sich für  $x = 3,31$  103 mg *Cocain*-HCl. Eingewogen wurden 350 mg, so daß die Ausbeute 29,2% beträgt.

Auch bei *Veratrin* findet man in der Extinktionskurve (2) des Ausschüttelungs-rückstandes keinen wesentlichen Unterschied zu der des officinellen Präparates (Abb. 12).

Nur der Anstieg ist etwas verflacht und das Minimum bei 2410 nach 2440 ÅE verschoben. Für  $\log x = 0,54$  ergibt sich  $x = 3,46$ . Bei dem als Einheit zugrunde gelegten Molekulargewicht von 519,4 entspricht dieser Wert 150 mg *Veratrin* und für 600 mg Einwaage einer Ausbeute von 25%.

#### IV. Spektrographische Aufnahmereihen von künstlich verunreinigten Alkaloidlösungen.

a) Diese Versuche wurden nun alle derart ausgeführt, daß das Verhältnis von Giftgehalt zu Verunreinigung günstig lag. Man konnte infolge hoher Einwaagen die Reinigung ziemlich weit treiben, ohne befürchten zu müssen, daß dabei Alkaloidmengen übrigblieben, die nicht mehr nachweisbar sind. Jedoch wurde von der Reindarstellung der Gifte, wie sie der Chemiker durch Ausfällen oder Mikrosublimation zur quantitativen Bestimmung benötigt, abgesehen.

In Aufnahmereihen soll nun noch untersucht werden, wie sich die spektrographische Alkaloidbestimmung gestaltet, wenn bekannte Alkaloidmengen mit einem meßbaren Prozentsatz an Verunreinigungen versetzt werden. Die Art und die Mengen der störenden Stoffe hängen zwar von dem verwendeten organischen Lösungsmittel und der Löslichkeit des Giftes darin ab. Um jedoch alle überhaupt möglichen verunreinigenden Substanzen zu gewinnen und ihren Einfluß erkennen zu können, wurde ohne die sonst notwendige Sorgfalt ein Trennungsgang nach *Stas-Otto* mit 200 g des gleichen zur Alkaloidextraktion verwendeten Gemisches aus inneren Organen durchgeführt. Die Ausschüttelungen mit je 2mal Amylalkohol, Essigester, alkoholischem Chloroform und Äther der sauren und sodaalkalischen Lösung wurden vereinigt und eingedunstet. Der stark gelb gefärbte Rückstand wurde mit Alkohol auf 200 ccm aufgefüllt. Zur Bestimmung der Festsubstanz ließ man in gewogenen Gläschen je 10 ccm der Lösung im Trockenschrank bei etwa 80° eintrocknen und im Exsiccator abkühlen.

Als Durchschnitt ergaben sich in 10 ccm 27 mg Verunreinigung.

Von der gelben Lösung, die außerordentlich stark grünlichweiß fluorescierte, wurden in Meßkolben 10, 20 und 50 ccm zu je 10 ccm einer eingestellten  $\frac{1}{200}$ -molaren Lösung von Strychninbase gegeben und mit Alkohol auf 100 ccm aufgefüllt. In der entstandenen  $\frac{1}{2000}$ -molaren Lösung kamen dabei auf je 19,86 mg Strychnin 27, 54 und 135 mg Verunreinigung. Während die reine Giftlösung sehr schwach grau fluorescierte, zeigten die Kolben mit 10 und 20 ccm der gelben Flüssigkeit ein starkes, der mit 50 ccm ein sehr starkes blauweißes Fluoreszenzlicht. In entsprechender Weise wurde eine  $\frac{1}{1362}$ -molare Lösung<sup>1</sup> von Morphinbase mit 5, 10 und 20 ccm verunreinigt. Auf je 27,57 mg Gift entfielen hierbei 13,5, 27 und 54 mg störende Feststoffe. Die sehr schwach graue Fluoreszenz der reinen Lösung änderte sich ebenfalls in stark blauweiß beim Zusatz der Verunreinigung.

b) Diese derart erhaltenen Lösungen mit den bekannten Verhältnissen zwischen Gift und Verunreinigung wurden nun spektrographisch

<sup>1</sup> Die  $\frac{1}{1362}$ -molare Lösung entstand durch einen Wägefehler, der erst nachträglich gefunden und sinngemäß verrechnet wurde.

auf ihre Absorption im Ultraviolett untersucht. Auf Abb. 13 stellen die Kurve (1) die Absorption von reinem Strychnin dar, die Kurven (2), (3) und (4) die derselben Giftmenge mit 10, 20 und 50 ccm Verunreinigung. Erwartungsgemäß sind die ansteigenden Äste in verschiedenem Maße nach dem langwelligen Teil zu verflacht. Die charakteristische Einsenkung bei 2800 ÅE ist erhalten geblieben, aber bei zunehmender Verunreinigung weniger ausgeprägt.

Das Maximum bei 2560 ÅE rückt nach 50 ccm Zusatz um etwa 30 ÅE nach dem kurzwelligen Teil. Die Lage des Minimums ändert sich nicht. Die Kurvenenden sind ungefähr gleichmäßig steil. Allerdings ist eine beträchtliche Verringerung des Abstandes der Extremwerte zu beobachten. Bei reinem Strychnin beträgt er 0,35, bei den anderen Kurven nur 0,27, 0,22 und 0,16 log  $\epsilon$ -Einheiten. Besonders auffällig ist die fast gesetzmäßige Verschiebung in der Höhe trotz gleicher Strychninmenge. Da jedoch der steigende Zusatz von absorbierender Substanz eine wachsende Extinktion zur Folge haben muß, ist diese Erscheinung erklärlich.

Allgemein läßt sich jedoch sagen, daß die Entstehung der Kurven noch nicht zur Unkenntlichkeit geführt hat. Trotz der Anwesenheit des 1,35-, des 2,7- und des

6,75fachen Überschusses an Verunreinigung bleibt der Kurvencharakter des Strychnins erhalten, weil sich die kennzeichnenden Stellen wohl verflachen, aber ihre Lage im Spektrum nicht wesentlich ändern.

Nicht ganz so günstige Verhältnisse findet man bei Morphin. In Abb. 14 stellt wieder Kurve (1) die Absorption des reinen Alkaloids dar; (2), (3) und (4) sind die Kurven mit 5, 10 und 20 ccm Verunreinigung. Die Verflachung des Anstiegs ist für 10 und 20 ccm mit der bei Strychnin gleichartig, für 5 ccm natürlich geringer. Jedoch verschwindet der typische große Höhenunterschied von 0,52 log  $\epsilon$ -Einheiten zwischen den beiden Extremen in Kurve (4) vollständig, in (3)

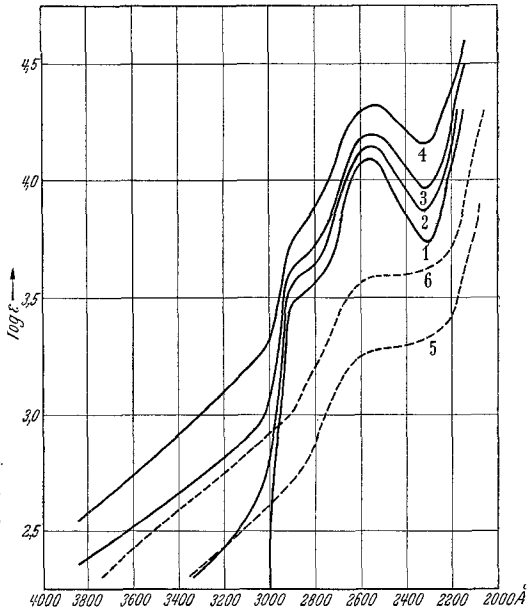


Abb. 13. Extinktionskurven (1) von 19,89 mg Strychnin; (2), (3), (4) von derselben Menge Strychnin mit 27, 54 und 135 mg verunreinigender Substanz; (5) und (6) von 27 und 54 mg Verunreinigung allein, alles in je 100 ccm abs. Alkohol gelöst.

und (2) beträgt er nur noch 0,12 und 0,18 Einheiten. Das Maximum bei 2870 ÅE ist in (2) nach 2850 ÅE und in (3) nach 2810 ÅE verlagert. Das Minimum bei 2630 ÅE bleibt in (2) an der gleichen Stelle und ist in (3) nach 2660 ÅE gerückt. Die leichte Einbuchtung bei 2350 ÅE wird bei zunehmender Verunreinigung eigentümlicherweise ausgeprägter. Die Erhöhung der Extinktion ist auch in dieser Aufnahmereihe zu beobachten.

Im ganzen gesehen, ist also Morphin optisch empfindlicher gegen störende Beimengungen als Strychnin. Schon bei 0,49fachem Zusatz

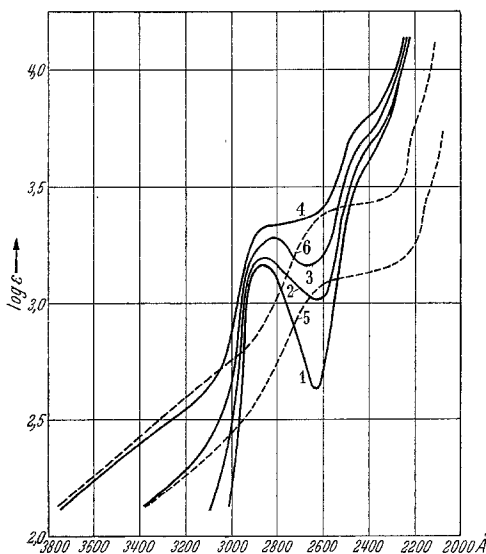


Abb. 14. Extinktionskurven (1) von 27,57 mg Morphin; (2), (3), (4) von derselben Menge Morphin mit 13,5, 27 und 54 mg verunreinigender Substanz; (5) und (6) von 27 und 54 mg Verunreinigung allein, alles in je 100 ccm abs. Alkohol gelöst.

wird die molare Kurve stark entstellt, mehr noch bei 0,98fachem, und sie wird unkenntlich und nicht mehr vergleichbar bei 1,96-facher Verunreinigung.

Abgesehen von der nicht ganz unmöglichen Identifikation des Morphins an Kurven, die wie (2) oder (3) ausfallen, könnte man für einen Absorptionsverlauf wie bei (4), trotz der starken Entstellung, aus der Lage der Stellen größter Krümmung, also bei 2860 und 2600 ÅE, die Extrema des Morphins vermuten, oder zum mindesten eine Anzahl andersartig absorbierender Alkaloide ausschließen.

c) Nun bleibt noch zu untersuchen, wie die verschieden starke Beeinflussung der Kurven von Strychnin und Morphin durch die

gleiche verunreinigende Masse zu erklären ist, und wie die Verzerrung der Extinktionskurven mit der Eigenabsorption dieses Stoffes zusammenhängt. Dazu wurden 10 und 20 ccm der Verunreinigung mit Alkohol auf 100 ccm aufgefüllt, so daß die gleiche Konzentration erreicht wurde, wie in den eingestellten Giftlösungen mit 10 und 20 ccm Zusatz. Die spektrographischen Aufnahmen zeigten zwar eine wenig charakteristische, aber doch starke Absorption in einem ähnlichen Bereich wie die Alkaloide. Um die Extinktionskurven sinngemäß einzuzeichnen, wurden die photometrierten Kurvenpunkte den  $\log \epsilon$ -Werten derart zugeordnet, daß die Absorptionen, die durch gleiche Schichtlängen bei den verunreinigten Giften und bei der Verunreinigung selbst erzielt wurden, bei der gleichen  $\log \epsilon$ -Zahl zu liegen kamen. Diese Kurven sind in

Abb. 13 und 14 gestrichelt als (5) und (6) dargestellt. Sie unterscheiden sich in ihrer Höhenlage um 0,3 Einheiten, entsprechend ihrem Konzentrationsverhältnis 2:1. Der Zusammenhang mit der Entstellung der Alkaloidkurven ist sofort erkennbar; denn der Anstieg beider Kurven (5) und (6) verläuft auffällig in der Nähe der Kurven von den mit 10 und 20 ccm verunreinigten Alkaloidkurven. Die Verflachung nach dem langwelligen Gebiet zu wird also tatsächlich durch den flachen Anstieg der Absorption der Verunreinigung bedingt. Bei *Strychnin* rührt die Streckung der eingesenkten Stelle bei 2800 ÅE von dem Einfluß des geraden Teiles zwischen 2900 und 2650 ÅE her. Die Extrema werden offensichtlich durch den fast waagerechten Verlauf zwischen 2600 und 2250 ÅE verflacht.

Da Strychnin ein höheres Absorptionsvermögen besitzt als die Verunreinigung, tritt eine starke Beeinflussung der Strychninkurve erst bei einem viel höheren Gehalt an Zusatzstoffen ein als bei Morphin. Bei dessen Extinktionskurve ist die Absorption der Verunreinigung im Bereich des Minimums 2630 ÅE größer als die des Alkaloids. Da sich beide Absorptionen summieren, muß die Kurve des Gemisches an allen Stellen über den beiden Einzelkurven liegen. Gerade bei Morphin kommen dadurch die starken Veränderungen der Extinktion zustande. So ist in Abb. 14 die Kurve (3) optisch die Summe von (1) und (5), und die Kurve (4) ist die Summe von (1) und (6). Einen weiteren Zusammenhang erkennt man noch an der stärkeren Ausprägung der leicht verflachten Stelle bei 2350 ÅE infolge des flachen Verlaufs von (5) und (6) in diesem Bereich. Außerdem ist durch den steilen Teil der Kurven der Verunreinigung von 2900—2650 ÅE die Verschiebung des Maximums der Morphinkurve zu erklären. Allgemein läßt sich also sagen, daß die typische Absorptionskurve eines Alkaloids durch Verunreinigungen um so stärker verzerrt erscheint, je geringer seine molare Extinktion ist und je näher sie dem starken Absorptionsbereich der verunreinigenden Stoffe von 2800 ÅE abwärts liegt. Außerdem wird durch Verunreinigungen ebenso wie bei gewichtsanalytischer Bestimmung ein höherer Giftgehalt vorgetäuscht.

d) Die obenerwähnte optische Summe, die für ein Gemisch eine neue Absorptionskurve liefert, scheint bei flüchtiger Betrachtung in keiner zahlenmäßigen Beziehung zu der Absorption der reinen Gemischanteile zu stehen, weil aus früher erwähnten Gründen die logarithmische Kurvendarstellung vorgezogen wurde. Wenn man jedoch für je eine bestimmte Wellenlängenzahl zum numerischen Wert der Extinktion des reinen Giftes den der Verunreinigung addiert, so gibt der Logarithmus der Summe an, welchen Abstand die Kurve des Gemisches von der des reinen Giftes in der Zeichnung haben muß. Voraussetzung für die Übereinstimmung zwischen dem spektrographisch gefundenen

Kurvenpunkt und dem errechneten ist, daß sich tatsächlich nur die Extinktionen der Gemischanteile addieren, ohne daß das Alkaloid eine Konstitutionsänderung erleidet. So stellt man z. B. nach Abb. 13 für die Stelle des Absorptionsmaximums von Strychnin bei 2560 ÅE folgende Berechnung an: (Die Indices an dem Symbol  $\varepsilon$  bedeuten die Kurvennummern in Abb. 13.) Man mißt mit der Schublehre dort den Abstand der Kurve des reinen Giftes von der der Verunreinigung zu:

$$\log \varepsilon_1 - \log \varepsilon_5 = \log \frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_5} = 0,81 .$$

Dann ist

$$\frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_5} = 6,45 \quad \text{oder} \quad \varepsilon_5 = \frac{\varepsilon_1}{6,45} .$$

Das ist die Extinktion der Kurve (5) an der Stelle 2560 ÅE ausgedrückt nach der molaren Extinktion der Kurve (1). Die Kurve für das Gemisch (2) soll nun durch Summierung der Absorptionen von (1) und (5) entstanden sein:

$$\varepsilon_2 = \varepsilon_1 + \varepsilon_5 = \varepsilon_1 + \frac{\varepsilon_1}{6,45} = \varepsilon_1 \left( 1 + \frac{1}{6,45} \right) ,$$

$$\varepsilon_2 = \varepsilon_1 \frac{7,45}{6,45} .$$

Das Absorptionsverhältnis zwischen (1) und (2) ist dann:

$$\frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} = \frac{6,45}{7,45} = 0,866 .$$

Der Logarithmus dieses Wertes stellt dann den Kurvenabstand zwischen (1) und (2) dar.

$$\log \frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} = \log 0,866 = -0,063 ,$$

also

$$\log \varepsilon_1 - \log \varepsilon_2 = -0,063 .$$

Das heißt: Die Kurve (2) muß an der betrachteten Stelle um 0,063  $\log \varepsilon$ -Einheiten über (1) liegen. Gemessen wird der Abstand zu 0,055 Einheiten. Dieser Wert weicht nur um 0,8 mm vom theoretischen ab. Bedenkt man, daß in diese Bestimmung die Messung zweier Kurvenabstände eingeht, so ist die Übereinstimmung als gut zu bezeichnen. Rechnet man in entsprechender Weise den Abstand zwischen Kurve (1) und (3) aus mit Hilfe der Kurve (6), die die Absorption von 20 ccm Verunreinigung darstellt, so erhält man den theoretischen Wert  $\log \varepsilon_1 - \log \varepsilon_3 = -0,118$  und gemessen wird  $-0,105$ . Die Abweichung von 1,3 mm liegt ebenfalls noch in der Fehlergrenze.

Die Gültigkeit der Rechnung bestätigt sich auch für die Kurven des Morphins auf Abb. 14. Addiert man an der Stelle des Minimums bei 2630 ÅE die Absorption der sich überschneidenden Kurven (1) und (5), so ergibt sich, daß die Kurve (3) mit 10 cem Verunreinigung 0,566  $\log \varepsilon$ -Einheiten über (1) zu liegen hat. In der Zeichnung beträgt der Abstand am Minimum 0,53 Einheiten. Der Fehler von 3,6 mm ist im Verhältnis noch geringer als in den beiden vorigen Berechnungen. Für die außerordentlich stark entstellte Kurve (4) errechnet sich mit Hilfe der Kurven (1) und (6), aus denen sie sich zusammensetzt, beim Minimum ein Abstand  $\log \varepsilon_1 - \log \varepsilon_4 = -0,796$ . Der gemessene Betrag von  $-0,76$  stimmt ebenfalls gut damit überein.

Diese 4 Beispiele sollen genügen, um zu zeigen, daß sich die Extinktionen der vollständig ungleichartigen Anteile tatsächlich addieren. Bedeutung erlangt diese Untersuchung dann, wenn es möglich sein wird, aus einer durch Verunreinigungen stark entstellten Extinktionskurve durch Rechnung die des reinen Alkaloids zu eliminieren, oder Gemische von Alkaloiden quantitativ zu trennen.

e) Für die quantitative Auswertung von Extinktionskurven unbekannter Lösungen ergeben sich hiernach neuartige Gesichtspunkte. Denn nicht nur qualitativ wird durch eine Verunreinigung der typische Kurvenverlauf verändert, sondern auch die zur Berechnung der Konzentration benutzten Höhenunterschiede zwischen 2 Kurven.

Für Strychnin soll an dem ungünstigsten Fall der Kurve (4) auf Abb. 13 mit 135 mg Verunreinigung auf 19,86 mg Alkaloid errechnet werden, wie groß nach der spektrographischen Methode die Abweichung vom tatsächlichen Giftgehalt ist im Vergleich zur wirklich in der Lösung enthaltenen Festsubstanz.

An der Stelle des Minimums bei 2310 ÅE beträgt der Abstand zwischen (1) und (4)  $\log x = 0,42$ . D. h. die Kurve (4) täuscht einen Strychningehalt vor, der  $10^{0,42}$  mal höher ist als der einer  $1/2000$ -molaren Lösung. Sie scheint also  $19,86 \cdot 2,63 \text{ mg} = 52,2 \text{ mg}$  Strychnin zu enthalten, während man beim Auswiegen der getrockneten Substanz  $19,86 \text{ mg} + 135 \text{ mg} = 154,86 \text{ mg}$  finden würde. Für die günstigere Kurve (2) auf Abb. 13, die beim Zusatz von 27 mg Verunreinigung zu 19,86 mg Strychnin entstanden ist, errechnet sich aus dem Abstand von 0,13 Einheiten zwischen den Minima von (1) und (2) ein scheinbarer Strychningehalt von  $19,86 \text{ mg} \cdot 10^{0,13} = 26,8 \text{ mg}$ , gegen 46,86 mg bei der Wägung der getrockneten Substanz. Ganz abgesehen davon, daß man das Gewicht einer sehr stark verunreinigten Alkaloidmenge nicht ohne weiteres als richtig annehmen, sondern sie vielleicht besser titrimetrisch bestimmen würde, erscheint in diesem Fall die spektrographische Bestimmungsmethode weniger fehlerhaft als die gewichtsanalytische.

Stellt man nun diese Berechnung für die entstellte Morphinkurve (3)



auf Abb. 14 an, bei der 27 mg Verunreinigung auf 27,57 mg Gift entfallen, so erhält man aus dem Abstand von 0,53 Einheiten beim Minimum 2630 ÅE zwischen (1) und (3) ein scheinbares Morphingewicht von  $27,57 \text{ mg} \cdot 10^{0,53} = 93,4 \text{ mg}$ , gegen 54,57 mg gewogener Trockensubstanz. Diese ungewöhnlich starke Verfälschung bei der optischen Auswertung rührt nun offensichtlich daher, daß die am stärksten verzerrte Stelle benutzt wurde, an der die Extinktion der Verunreinigung weit größer ist als die des Alkaloids. Wenn man jedoch in der Praxis nicht eine Gegenüberstellung von Extinktionskurven vor sich hat, wie in Abb. 14, sondern wenn man eine Absorption von der Form (3) als Kurve von verunreinigtem Morphin anspricht, dann wird man zur quantitativen Bestimmung das Maximum benutzen; denn seine rundliche Form hat nur eine viel geringere Beeinflussung erlitten als das Minimum, das eigentlich spitz verlaufen sollte. Unter diesem Gesichtspunkt ergibt sich für den Abstand von 0,12  $\log \varepsilon$ -Einheiten zwischen den Maxima von (1) und (3) ein scheinbarer Morphingehalt von  $27,57 \text{ mg} \cdot 10^{0,12} = 36,3 \text{ mg}$  gegen 54,57 mg bei der Wägung. Also gelingt es auch hierbei, den durch die Verunreinigung entstehenden Fehler durch die spektrographische Auswertung auf ein geringeres Maß herabzudrücken.

Wendet man diese Erfahrung auf die Absorptionskurve des extrahierten Morphins (Abb. 9) an, die die stärkste Verzerrung von allen gefundenen Kurven zeigt, so erkennt man bereits aus dem Höhenunterschied der Extrema untereinander von 0,3  $\log \varepsilon$ -Einheiten, daß der Gehalt an störenden Beimengungen noch geringer ist, als bei der Kurve (2) in Abb. 14, bei der 13,5 mg Verunreinigung den Abstand der Extrema auf 0,18 Einheiten herabsetzen. Bei dieser Kurve würde man infolge der Höhenverschiebung am Maximum von 0,04 Einheiten 8,8% mehr Morphin bestimmen. Die Verunreinigung des Organextraktes (Abb. 9) verfälscht den tatsächlichen Morphingehalt auf Grund der spektrographischen Bestimmung, also sicher um weniger als 8%.

Die Größenordnung der Verunreinigung für die Absorptionskurven der übrigen Organextrakte festzustellen, ist offensichtlich überflüssig; denn infolge ihrer großen Ähnlichkeit mit den molaren Kurven liegt ein etwaiger Fehler ohne Zweifel unter der allgemeinen Grenze. Die in diesem Abschnitt niedergelegten Erfahrungen erhalten jedoch dann eine ausschlaggebende Bedeutung, wenn die anfallenden Alkaloidmengen so gering sind, daß sie in einem ähnlich ungünstigen Verhältnis zu den störenden Beimengungen stehen wie bei den Versuchen mit künstlich verunreinigten Lösungen. Betrachtet man insgesamt den Einfluß von Verunreinigungen auf die quantitative Auswertung von Absorptionskurven, so erkennt man, daß bei gut ausgeprägten Kurven kein wesentlicher Fehler entstehen kann. Bei entstellten Kurven ist der in die spektrographische Bestimmung gelangende Fehler bei folge-

richtiger Verwertung der beschriebenen Zusammenhänge meist kleiner, als wenn die verunreinigte Alkaloidsubstanz gewichtsanalytisch bestimmt würde.

### V. Zusammenfassung.

Die Versuche über die spektrographische Bestimmung von Alkaloiden in Leichenteilen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Um die Absorptionerscheinungen von Alkaloiden im Ultraviolett kennenzulernen, wurden einige Pflanzengifte aus verschiedenen Gruppen in wässriger und alkoholischer Lösung mit Hilfe des Quarzspektrographen „Qu 24“ untersucht. Die Aufnahmetechnik für die in Frage kommenden Absorptionsspektren wurde derart ausgearbeitet, daß für ihre Verwendung eine *ausreichende* Genauigkeit bei verhältnismäßig einfacher Ausführung erzielt werden konnte. Eine eingehende Fehlerbesprechung zeigte, daß die Größenordnung der möglichen Fehler das zulässige Maß *keinesfalls* überstieg. Die untere Grenze der Nachweisbarkeit wurde für jedes untersuchte Alkaloid bestimmt. Sie liegt in Anbetracht der gleichzeitig quantitativ verwertbaren Ergebnisse mit durchschnittlich 1 mg (außer für Atropin mit 8,75 mg) außerordentlich niedrig.

2. Diese Erfahrungen wurden in Modellversuchen auf Alkaloidextrakte aus Organteilen angewendet. Die spektrographische Bestimmungsmethode erwies sich als *durchaus brauchbar* und manchem *chemischen* Verfahren als *ebenbürtig*, beim Vorhandensein reiner Giftlösungen sogar als überlegen; denn die erhaltenen Resultate haben den außerordentlichen Vorteil, daß sie *unmittelbar quantitativ* auszuwerten sind. Vor allem sind *Leichenalkaloide*, die sich bei der Fäulnis organischen Materials bilden, ohne weiteres von *echten* Alkaloiden zu *unterscheiden*.

3. Während dieser Versuche erhob sich die Frage danach, in welcher Weise die Extinktionskurven von Alkaloiden verändert erscheinen, wenn sich verunreinigende Stoffe in den Extrakten nach *Stas-Otto* befinden. Deswegen wurden spektrographische Aufnahmereihen von Alkaloidlösungen angefertigt, die mit gemessenen Mengen einer geeigneten Verunreinigungslösung versetzt waren. Rein qualitativ fand sich ein gesetzmäßiger Zusammenhang zwischen den Absorptionskurven der verunreinigten Gifte und denen der reinen Gemischanteile. Trotz ihrer ungleichartigen Zusammensetzung konnte auch eine zahlenmäßige Beziehung zwischen je drei solchen Kurven errechnet werden. Danach ergaben sich neue Gesichtspunkte für die quantitative Auswertung der Extinktionskurven von Alkaloidextrakten, die vor allem bei kleinen anfallenden Giftmengen von wesentlicher Bedeutung sind. Denn die spektrographische Bestimmung von verunreinigten Alkaloiden erwies sich genauer als die gewichtsanalytische. Auf Grund dieser Ergebnisse

ist zu erwarten, daß man ungleichartige Gemische nach ihren Absorptionskurven durch Rechnung quantitativ trennen kann.

4. Die Anforderungen, die vom Standpunkt der gerichtlichen Medizin an das Verfahren gestellt werden, sind erfüllt. Denn die Untersuchungssubstanz bleibt erhalten und das Analysenresultat liegt photographiert und graphisch dargestellt anschaulich vor. Die spektrographischen Aufnahmen sind nicht zeitraubender, als die chemische Aufarbeitung von Ausschüttlungsrückständen, die noch mit Verlusten und Fehlerquellen verknüpft sein kann.

5. Es ist vorauszusehen, daß der Chemiker sogar unter ungünstigen Verhältnissen richtunggebende Hinweise erhalten wird, die seine Arbeit abkürzen und vereinfachen, besonders dann, wenn bei der Untersuchung von organischem Material kein Anhaltspunkt für die Art des vorliegenden Giftes besteht. Natürlich werden sich beim spektrographischen Alkaloidnachweis Schwierigkeiten ergeben, die vor allem von der Größe des Absorptionsvermögens abhängen. Doch ist nicht zu verkennen, daß sich bei der chemischen Alkaloidbestimmung ebenfalls Schwierigkeiten bieten, die zwar andersartig, aber nicht minder schwerwiegend sind.

6. Um das Verfahren brauchbar zu gestalten, ist es notwendig, von möglichst vielen Alkaloiden — soweit sie rein darstellbar sind und optisch unverändert aus dem toxikologischen Trennungsgang hervorgehen — die Extinktionskurven kennenzulernen. Bei Alkaloiden, die sich während der Extraktion verändern, wird man durch Modellversuche die Abweichungen der Absorptionserscheinungen feststellen können. Bei dem jetzigen Stand der Arbeiten sind die Untersuchungen in sich geschlossen. Darüber hinaus erhebt sich natürlich für die gerichtliche Medizin die Frage, in welcher Art ein Alkaloid im Organismus angereichert oder zersetzt wird. Das nach dem spektrographischen Verfahren zu klären, ist Aufgabe von Tierversuchen, die in derselben Weise wie die Modellversuche im hiesigen Institut begonnen worden sind.

---

#### Literaturverzeichnis.

*Fischer, H.*, Zürich, Die physikalische Chemie in der gerichtlichen Medizin. Zürich: Verlag Rudolf 1925. — *Gadamer, I.*, Lehrbuch der chemischen Toxikologie. Göttingen 1924. — *Kohlberg-Beck*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **12** (1928). — *Löwe, Fr.*, Optische Messungen des Chemikers und Mediziners. Leipzig: Verlag Steinkopff 1933. — Druckschrift der Firma *Carl Zeiss*, Jena, Gebrauchsanweisung zum Spektrograph für Chemiker. Mess. 452 III.

---