

89057

Untersuchungen

über

ein aus Afrika stammendes Fischgift.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten medicinischen Facultät der Kaiserl.
Universität zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Bruno Raue.

Ordentliche Opponenten:

Doc. Dr. E. Stadelmann. — Prof. Dr. R. Kobert. — Prof. Dr. G. Dragendorff.

Dorpat.

Druck von H. Laakmann's Buch- und Steindruckerei.

1889.



Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.
Dorpat, den 5. April 1839.
Nr. 133.

Referent: Professor Dr. G. Dragendorff.
Decan: Dragendorff.

MEINER **M**MUTTER

IN LIEBE UND DANKBARKEIT

gewidmet.

93083

Bei Veröffentlichung vorliegender Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, allen meinen hochverehrten Lehrern für die Leitung und Förderung meiner Studien meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Insbesondere bitte ich Herrn Professor Dragendorff, dem ich dieses Thema verdanke, für das vielfache Interesse an demselben und die liebenswürdige Unterstützung, meinen tiefgefühlten Dank entgegen nehmen zu wollen.

A. Einleitung.

Im Jahre 1882 erhielt Herr Professor Dragendorff aus dem Importgeschäft von Christy & Co. in London eine kleine Quantität einer Droge (im Ganzen 600 grm.) mit der Bitte, die Substanz näher untersuchen zu lassen, da fast gar nichts über dieselbe bekannt sei. Das einzige, was man wusste, war, dass die Droge, ein Holz, von den Eingeborenen auf Mozambique und den Südcinceln zum Fischfang benutzt werde, indem sie die Fische betäube und an die Oberfläche des Wassers bringe, wo sie alsdann mit der Hand gefangen werden können. — Diefem Umstande verdankt die Substanz ihren Namen «Fischgift» mit welchem das hierhergefundte Holz bezeichnet war. Prof. Dragendorff übergab die Untersuchung Herrn Carl Thomson, der darüber in einer Inaugural-Differtation «Untersuchungen eines aus Westafrika stammenden Fischgiftes», Dorpat 1882 berichtet. Leider musste sich genannter Autor mit der geringen Menge von 600 grm. der Droge begnügen, er musste seine Arbeit abschließen, ohne dass er mit dem Resultate hätte zufrieden sein können.

Die physiologischen Versuche mussten sich nur auf Fische beschränken, auf die durch geringe Mengen der Substanz eine sehr energische Wirkung erzielt werden kann, die Versuche auf andere Thiere mussten eingestellt werden, da geringe Mengen keine Wirkung brachten. Besonders da die wirksame Substanz — wie sowohl aus Thomsons, als

aus meinen Versuchen hervorgeht -- eminent leicht zersetzlich ist, so konnten 600 grm. absolut nicht genügen. Erst mehrere Jahre später wurden Professor Dragendorff wiederum von den Herren Crifty & Co. grössere Quantitäten der Droge, etwa 10 Pfd. gefandt, welche er in liebenswürdigster Weise mir zur Verfügung stellte, damit ich die Untersuchungen Thomsons vervollständigen sollte. Diesem nachzukommen habe ich in Folgendem versucht. —

Was die Droge selbst anbelangt, so bestand sie in zerfügten Asttheilen eines in Westafrika einheimischen Baumes. — Es waren Stücke von ca. 20 Cm. Länge und 2—4 Cm. Dicke, vollständig geruch- und geschmacklos. Die Rinde ist aussen schmutzig graubraun, innen gelblich gefärbt, längsfurchig, der Holzkörper gelblich-grau; er besitzt grosse Holzgefäße, die den Querschnitt siebartig erscheinen lassen. Das Mark ist stark geschrumpft, so daß eine unregelmässige Höhlung in der Mitte entstanden ist. Das Holz ist ziemlich weich und faserig; um es zu pulvern, muß man es zuvor längere Zeit in zerfchnittenem Zustande trocknen lassen. Ich konnte dann für meine Zwecke ein recht feines Pulver erhalten.

Die Mutterpflanze des Holzes gehört offenbar zur Familie der Papilionaceen, der anatomische Bau stimmt im Ganzen mit dem Bau genannter Familie überein; es ist möglich, daß sie einer Tephrosia angehört, von der mehrere Arten z. B. auch von den Bewohnern der Südseeinseln zum Fischfang benutzt werden.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt Folgendes: Die Libriformzellen sind stark verdickt, die Parenchymzellen dünnwandig. — In den Holzgefäßen findet sich ein gummiähnlicher Körper; außerdem sind noch Zellen vorhanden, welche Harz führen, diese kommen namentlich in der Mark-

scheide vor, im Holz sind sie seltener. — Stärke ist nicht sehr viel vorhanden, sie kommt nur im Holze vor, die Rinde enthält keine Stärke. Die Markstrahlen verlaufen radial, sie sind nur unter dem Mikroskope sichtbar.¹⁾

B. Quantitative Bestimmungen.

Die quantitativen Bestimmungen sind von Thomson nach den Methoden, die Professor Dragendorff in seiner «Analyse von Pflanzen und Pflanzentheilen» angiebt, gemacht worden. — Ich gebe hier die zusammengefaßten Resultate, die ich der Dissertation von Thomson entnehme:

	In Procenten.	
Feuchtigkeit	7,29	
Afche	4,03	
Fett, fowol wie ein Theil der wirk-		
famen Substanz, in Petrolaether löslich	0,96	
Wachsartige Substanz in Aether löslich	0,65	
Harz, in Alcohol löslich	0,70	
Eiweißsubstanzen und Schleim	2,35	
Gerbstoff	0,25	
Organische Säuren	0,47	
Ammoniak	0,0425	
In Wasser lösliche Eiweißstoffe	3,31	
Sonstige, in Wasser lösliche Substanzen	3,9645	} In Wasser löslich 8,60 %
Metarabin, in 1 % Natronlauge löslich .	1,325	
In 1 % Natronlauge lösliche Eiweißstoffe	0,47	
Sonstige, in 1 % Natronlauge lösliche Substanzen (nach Abzug des Eiweißes)	1,48	

1) Siehe Thomson «Untersuchungen eines aus Westafrika stammenden Fischgiftes.» Inaugural-Dissertation. Dorpat 1882.

	In Procenten.
Holzgummi, in 10 % Natronlauge löslich	3,07
Pararabinartige Substanz, in verdünnter Chlorwasserstoffsaure löslich	1,53
Sonstige, in verdünnter HCl lösliche Substanz, namentlich Amylon	1,20
In Natronlauge unlösliche Eiweissstoffe	4,47
Substanzen der Mittellamelle	0,88
Zellstoffe	34,98
Lignin	31,97

C. Versuche an Fischen und zur Isolirung des giftigen Bestandtheiles.

Durch die Thomsonsche Schrift sind einige Fragen, die man sich bei der Untersuchung stellen muß, beantwortet worden. Wir erfahren, daß die Substanz eine sehr energisch toxische Wirkung auf Fische hat; wir lernen einige Lösungsmittel derselben kennen, sehen eine eminent leichte Zerfetzlichkeit, wodurch die Wirksamkeit verloren geht; zum Schluß wird uns gezeigt, daß die wirksame Substanz kein Alcaloid und kein Glycosid ist.

Vieles, ja das Meiste, ist aber unbeantwortet geblieben, Einiges wieder fordert zu Controllversuchen auf, daher ich bei meinen Versuchen wie zur Bearbeitung einer noch ganz unbekanntem Substanz ging und nur die quantitativen Bestimmungen Thomsons verwerthete.

Zunächst drängten sich mir folgende Fragen auf: Auf welche Weise kann man die wirksame Substanz gewinnen? — wie hat man die größte Ausbeute — kann man das Holz erschöpfen — alles Wirkfame ihm entziehen? was für ein

Körper stellt das Gift vor, kann man es rein isoliren — was hat es für Eigenschaften — welche Reactionen? etc. etc.? Die meisten dieser Fragen können, da man unbedingt die grösste Rücksicht auf die leichte Zeretzlichkeit der Substanz nehmen muss, nur an der Hand physiologischer Versuche beantwortet werden, und da eine recht energifische Wirkung nur auf Fische constatirt ist, eben durch Versuche an diesen Thieren. Dementsprechend fange ich mit den Experimenten an Fischen an, die ich in Folgendem aufzählen will, und erst, wenn ich dadurch greifbare Resultate erlangt, gehe ich auf Versuche mit anderen Thieren und speciell auf einige, die Oben angedeuteten Fragen betreffende Untersuchungen über. —

Zunächst benutzte ich kleine Fische von 5—8 Cm. Länge, im Mittel ca. 1 grm. schwer; sie gehörten der Familie der Cyprinoiden an. Zum grössten Theil kam der «*Cyprinus idus melanotus*» (in Dorpat Dickfisch genannt) zur Anwendung, dann auch der «*Cyprinus rutilus*» (Bleyer). Später dehnte ich meine Versuche auf andere Fischklassen und auch auf grössere Thiere aus. Sie wurden in geräumigen Gefässen in Flusswasser, welches jeden Tag gewechselt wurde, gehalten. Das frische Wasser wurde aber erst dann gebraucht, wenn es Zimmertemperatur angenommen hatte. Ich benutzte niemals frisch gefangene Fische, sondern stets solche, die bereits längere Zeit in Gefangenschaft gehalten waren und welche sich als völlig gesund erwiesen hatten. Zu den Versuchen nahm ich parallelwandige Glasgefässe von ca. 20 Cm. Durchmesser, 10 Cm. Höhe. Von Lösungsmitteln in denen die wirksamen Bestandtheile des Holzes löslich, giebt Thomson Wasser, Alcohol, Petroläther, Aether und Chloroform an, — beginnen wir mit dem ersten.

5,0 grm. des gepulverten Holzes werden 20 Minuten lang mit 50 Ccm. destillirtem Wasser gekocht, das Ganze dann filtrirt, dabei noch mit Wasser nachgewaschen, bis das Filtrat 100 Ccm. beträgt. Das Filtriren dauert 24 Stunden, da ich eine möglichst starke Concentration des Auszuges zu erhalten wünschte. Mit dem Filtrat werden folgende Versuche ausgeführt:

Versuchsreihe I.

1. 20 Ccm. (entsprechend 1,0 grm. Subst.) werden mit einem Liter Flußwasser verdünnt und in eine Glafschale von oben beschriebenen Dimensionen gegossen. Darauf wird ein Fisch hineingethan. Die Vergiftungserrscheinungen, die sich, — abgesehen von kleinen Verschiedenheiten — bei allen Versuchsthieren wiederholen, sind folgende: Nachdem etwa 10 Minuten nichts Absonderliches zu bemerken gewesen, wird das Thier plötzlich sehr unruhig, steigt hastig auf und nieder, die Athmung ist beschleunigt, die Kiemenbögen erweitern sich mehr als gewöhnlich, Zuckungen durch den ganzen Körper treten ein, das Thier schnappt häufig nach Luft. Nach einer halben Stunde tritt Neigung ein, die Seitenlage einzunehmen, die durch häufige, blitzartige Bewegungen — Zuckungen ähnlich — unterbrochen wird. Allmählig werden die Bewegungen feltener, auch langsamer, die Seiten- und Rücken - Lage dauert immer länger, bis schließlich das Thier sich nach $\frac{3}{4}$ Stunden vollständig auf den Rücken legt. Diese Lage wird noch einige Male durch kurze Schwimmversuche unterbrochen, endlich wird sie constant, alle Versuche sich aufzurichten, mißlingen; einige leise Zuckungen treten noch auf, dann liegt das Thier vollständig bewegungslos da (im Ganzen nach einer Stunde).

Die Respirationsbewegungen sind sehr energisch, ihre Frequenz beträgt 140 in der Minute; nach $3\frac{1}{2}$ Stunden beträgt die Frequenz nur noch 24 in der Minute, nach $5\frac{1}{2}$ Stunden 18, nach 8 Stunden verendet das Thier, nachdem ein kurzdauerndes Vibriren der Kiemenbögen dem Tode vorangegangen. Der todte Fisch hat seine ursprüngliche Farbe verloren, ist dunkler geworden, besonders am Rücken — eine Erscheinung, die ich überhaupt bei allen Thieren nach Einwirkung des Giftes constatiren konnte.

2. 10 Ccm. (0,5 grm. Substanz) — 1 Liter Flusswasser: Ein hineingebrachter Fisch zeigt erst nach $\frac{3}{4}$ Stunden die Neigung zur Seitenlage, nach 2 Stunden liegt das Thier bewegungslos auf dem Rücken, bei gleichfalls tiefer Athmung, Frequenz 124 in der Minute, nach $3\frac{1}{2}$ Stunden 44, 9 Stunden 22, etwas unregelmäßig. Tod nach 26 Stunden.

3. 5 Ccm. (0,25 grm. Substanz) — 1 Liter Flusswasser: Die ersten Vergiftungsercheinungen, die Unruhe, lassen sich erst nach 4 Stunden constatiren, nach 5 Stunden Neigung zur Seitenlage, $\frac{1}{2}$ Stunde darauf bleibende Rückenlage, energische Athmung — 120 in der Minute. Tod nach 9 Stunden unter plötzlich eintretenden heftigen Zuckungen.

4. 2,5 Ccm. (0,125 Subst.) — 1 Liter Flusswasser: — Es tritt keine Wirkung bei den hineingebrachten Fischen ein, sie sind noch nach 2×24 Stunden ganz munter.

5. 1,25 Ccm. (0,0625 Subst.) — 1 Liter Flusswasser: Ebenfalls keine Wirkung.

Nach 2×24 Stunden wird mit demselben Filtrat eine zweite Versuchsreihe ange stellt.

Versuchsreihe II.

1. 20 Ccm. (1,0 grm. Subst.) — 1 Liter Flusswasser: Beginnende Unruhe beim Fisch nach 20 Minuten, nach

einer Stunde Neigung zur Seitenlage, die nach $1\frac{1}{2}$ Stunden constant wird. — Jetzt wird das Thier herausgenommen und in frisches Flusswasser gebracht. Es bleibt anfangs in der Rückenlage unbeweglich liegen, 104 Respirationsbewegungen in der Minute, $\frac{1}{2}$ Stunde darauf macht es einige langsame ungeschickte Schwimmversuche; plötzlich nimmt das Thier die normale Lage ein, die Bewegungen werden freier und ausgiebiger und nach einer Stunde macht der Fisch den Eindruck eines vollständig gefunden Thieres. Die dunkle Farbe schwindet allmählig im Verlauf von ca. 2 Stunden. Das Thier bleibt auch fernerhin am Leben.

2. 20 Ccm. (1,0 grm. Subst.) — 1 Liter Flusswasser: Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden bleibende Rückenlage, 130 Kiemenbewegungen in der Minute. Erst nachdem das Thier $\frac{1}{2}$ Stunde bewegungslos gelegen, wird es in frisches Wasser gethan — es erholt sich auch vollständig.

3. 20 Ccm. (1,0 grm. Subst.) — 1 Liter Flusswasser: Nachdem der hineingebrachte Fisch 2 Stunden lang bleibende Rückenlage beobachtet hat, wird er in frisches Wasser gethan, wo er sich $1\frac{1}{4}$ Stunde später vollständig erholt hat. Die normale Farbe kehrt erst nach 3 Stunden wieder.

4. 10 Ccm. (0,5 grm. Subst.) — 1 Liter Flusswasser: Nach 24 Stunden lebt das Thier noch, bewegungslos auf dem Rücken liegend. In frisches Wasser gethan, erholt es sich vollständig in ca. $1\frac{1}{2}$ Stunden — nach $3\frac{1}{2}$ Stunden ist auch die dunkle Farbe geschwunden.

Diese Versuche (II) zeigen, daß die Fische durch das Gift zunächst nur betäubt werden und sich im frischen Wasser vollständig erholen können. Im Weiteren werden wir sehen, daß dieses nur bis zu einer gewissen Grenze geschieht,

beliebig lange darf man die Thiere nicht im vergifteten Wasser liegen lassen, wenn man sie später noch am Leben erhalten will. Aber noch ein Zweites tritt durch diese Versuchsreihe (II) zu Tage und fordert jedenfalls zu genaueren Untersuchungen auf, nämlich, daß eine wässrige Lösung der Substanz sich mit der Zeit zersetzt, da die Vergiftungserscheinungen von Tag zu Tage bei den hineingebrachten Fischen immer später eintreten.

Um dies Verhalten genau zu untersuchen, werden nun 3,0 grm. des gepulverten Holzes mit 60 Ccm. destillirten Wassers $\frac{1}{4}$ Stunde lang gekocht, gleich darauf filtrirt und schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde das Filtrat benutzt. Folgende Versuche werden damit angestellt:

Versuchsreihe III.

1. 20 Ccm. (1,0 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser: Symptomenbild beim Fisch: Nach 20 Minuten Neigung zur Seitenlage, nach einer halben Stunde bleibende Rückenlage, 140 Respirationsbewegungen in der Minute, nach 1 Stunde 56, nach 1 Stunde 15 Minuten 20. Nach einer Stunde 40 Minuten Eintritt des Todes. Ein zweiter Versuch gab dasselbe Resultat. In dieselbe Flüssigkeit wird ein drittes Thier gelegt. Nach 1 Stunde, nachdem das Thier schon längere Zeit bewegungslos gelegen hatte und nur noch 20 Kiemenbewegungen in der Minute beobachtet wurden, wird es in frisches Wasser gethan. Es erholt sich nicht mehr, sondern verendet nach kurzer Zeit.

2. 10 Ccm. (0,5 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser: Nach 35 Minuten leichte Neigung zur Seitenlage, nach 50 Minuten bleibende Rückenlage. Nach 2 Stunden 44 Respirationsbewegungen — nach 3 Stunden 15 Minuten: Tod.

3. 5 Ccm. (0,25 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser. Nach 1 Stunde beginnende Seitenlage, welche eine Viertelstunde darauf bleibend wird. Nach 7 Stunden 22 Respirationbewegungen. Jetzt in frisches Wasser gethan, erholt sich das Thier nicht mehr.

4. 2,5 Ccm. (0,125 grm. Subst.) — 1 L. Flw. Nach 24 Stunden finde ich das Thier todt und von dunklerer Farbe, woraus hervorgeht, dafs es vor ganz kurzer Zeit gestorben sein mufs, da die Fische, falls sie mehrere Stunden todt in der Flüssigkeit gelegen haben, eine viel hellere Farbe annehmen.

5. 1,25 Ccm. (0,0625 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser. Keine Wirkung.

Die Versuchsreihe III ist im Vergleich zu I und II ein ficherer Beweis, dafs eine wäsrige Lösung des Giftes sich mit der Zeit zersetzt und die Zeretzungsproducte keine Wirkung auf Fische auszuüben vermögen. Hier kann ich durch 0,125 grm. Subst. noch eine Wirkung erzielen, in I und II, wo das Filtrat erst nach längerer Zeit zur Anwendung kam, nicht mehr.

5,0 grm. Substanz werden mit 50 Ccm. destillirten Wassers 24 Stunden bei 25° macerirt, dann filtrirt, wobei von Zeit zu Zeit kleine Mengen Wassers auf das Holz gegossen werden, bis das Filtrat 100 Ccm. beträgt. (Es vergehen bei der Filtration auch ca. 24 Stunden). Dieses Filtrat wird zur nächsten Versuchsreihe benutzt.

Versuchsreihe IV.

1. 20 Ccm. (1,0 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde Neigung zur Seitenlage, die nach 1 Stunde nicht mehr verändert werden kann. Der Tod erfolgt nach 5 Stunden.

2. 10 Ccm. (0,5 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser. Nach $1\frac{3}{4}$ Stunden Neigung zur Seitenlage, diese nach $2\frac{1}{2}$ Stunden bleibend. Nach 7 Stunden lebt das Thier noch, Tod in der Nacht. (Um 10 Uhr Vormittags war das Thier hineingelegt worden).

3. 5 Ccm. (0,25 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser. Keine Wirkung.

4. 2,5 Ccm. (0,125 grm. Subst.) — 1 Liter Flußwasser. Keine Wirkung.

Bei einer andern **Versuchsreihe V**, wo ebenfalls 5,0 grm. Subst. 24 Stunden mit 100 Ccm. Wasser macerirt wurden, wo aber gleich das erste Filtrat, das man schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde erhalten konnte, benutzt wurde, war die Wirkung eine energischer, der Tod trat bei den Versuchsthiereu früher ein. — Die Versuchsreihen IV und V zeigen, daß das Gift auch in kaltem Wasser löslich ist, wenngleich etwas schwerer als in der Hitze; die Wirkung war nicht so energisch.

5,0 grm. Substanz werden mit 100 Ccm. destillirten Wassers 2 Stunden unter Rückfluskkühlung und Ersatz des verdunsteten Wassers gekocht, (ein gleiches Verfahren wurde stets beim Kochen angewandt), hierauf 20 Ccm. davon abfiltrirt (damit es schneller geschehe, wurde Gaze dazu benutzt), das Uebrige kocht weiter. — 2 Stunden darauf werden wieder 20 Ccm. abfiltrirt und so fort. Im Ganzen gewinnt man auf solche Weise 4 Filtrate zu 20 Ccm. — die Ergebnisse dieser Versuche waren folgende:

Versuchsreihe VI.

1. 20 Ccm. (1,0 grm. Subst.) — 1 L. Flw.: Symptome beim Fisch: Nach $\frac{1}{4}$ St. leichte Neigung zur Seitenlage, nach 55 Min. keine Athembewegungen mehr, nur noch hin

und wieder ein Vibriren der Flossen und Kiemenbögen. Tod nach 1 Stunde.

2. 20 Ccm. — 1 L. Flw.: Nach 20 Minuten Neigung zur Seitenlage, nach 1 Stunde 5 Min. Tod.

Controllversuche zu 1 und 2 haben dieselben Resultate.

3. 20 Ccm. — 1 L. Flw.: Nach 20 Minuten Neigung, die Seitenlage einzunehmen, nach $\frac{1}{2}$ Stunde bleibende Rückenlage. Nach 1 Stunde 5 Min. Tod. Controllversuche eben so; in der letzten Minute vor dem Tode 6 Athembewegungen.

4. 20 Ccm. — 1. L. Flw.: Tod nach einer Stunde 8 Minuten.

Die Versuchsreihe VI beweist, daß das Gift beim Erwärmen mit Wasser nur langsam zersetzt wird.

10,0 grm. Substanz werden mit 200 Ccm. destillirten Wassers 2 St. gekocht, darauf filtrirt. Vom Filtrat werden täglich 20 Ccm. genommen und mit 1 L. Flw. verdünnt. Die in die Lösung hineingebrachten Fische zeigten Folgendes:

Versuchsreihe VII. Frischer Aufguß.

1. Nach 20 Min. die ersten Betäubungsercheinungen, nach $\frac{1}{2}$ Stunde bleibende Rückenlage, nach $1\frac{1}{4}$ Stunden 17 Athembew. Tod nach $1\frac{1}{2}$ Stunden.

2. 1 Tag alter Aufguß. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde die ersten Betäubungsercheinungen, Tod nach 3 Stunden.

3. 2 Tage alter Aufguß. Tod nach $3\frac{1}{4}$ Stunden.

4. 3 Tage alter Aufguß. Tod nach längerer Zeit.

Beim 3. und 4. Versuch war die Flüssigkeit schon trübe geworden, unter dem Microscope bemerkte man eine Menge Bacterien und eine grüne amorphe Masse.

Die Versuchsreihe VII wurde angestellt, um sich ein genaueres Bild über die Zerfetzlichkeit des Giftes zu verschaffen und die sichtbare Veränderung einer wässrigen Lösung zu studiren. Sie beweist, daß das Gift beim Aufbewahren der Wasserlösung schon innerhalb weniger Tage sich theilweise zerfetzt.

5,0 grm. Substanz werden mit 100 Ccm. destillirtem Wasser 2 Stunden gekocht, dann filtrirt. Vom Filtrat werden 20 Ccm. genommen und zum Versuch benutzt, mit 1 Liter Flußwasser verdünnt.

Versuchsreihe VIII.

1. Ein hineingebrachter Fisch zeigt nach 20 Minuten die ersten Betäubungserscheinungen. Tod nach $1\frac{3}{4}$ Stunden. Das übrige Filtrat wird 3 Stunden gekocht, von ihm werden darauf 20 Ccm. genommen und mit 1 Liter Flußwasser verdünnt.

2. Diese jedoch haben keine Wirkung mehr, das hineingelegte Thier ist nach mehreren Tagen noch ganz munter. Der Rest des Filtrats kocht $1\frac{1}{2}$ Stunden weiter, hierauf

3. 20 Ccm. — 1 Liter Flußwasser. Keine Wirkung.

Durch Versuchsreihe VIII wird zur Evidenz bewiesen, daß eine wässrige Lösung des Giftes sich in der Wärme vollständig und schnell zerfetzt.

Mit dieser Versuchsreihe beschliesse ich meine Untersuchungen mit wässrigen Lösungen. Die Resultate werde ich später am Ende meiner Versuche an Fischen zusammenfassen.

Gehen wir somit auf ein anderes Lösungsmittel über.

100,0 grm. des gepulverten Holzes werden mit 500 Ccm. Petroläther extrahirt (8 Tage), darauf filtrirt, der Rückstand noch mehrere Male mit Petroläther nachgewaschen. Vom Filtrat wird letzterer zum größten Theil abdestillirt, der Rest verdunstet. Der Trockenrückstand nach dem Verdunsten beträgt 0,764 grm.

Versuchsreihe IX.

Von diesem Petrolätherextract bringe ich 0,01 grm. in $\frac{1}{2}$ Liter Flusswasser und thue einen Fisch hinein. Das Symptomenbild bei diesem ist folgendes: Nach $\frac{1}{4}$ Stunde leichte Neigung zur Seitenlage, nach $\frac{1}{2}$ Stunde bleibende Rückenlage, 108 Kiemenbewegungen in der Min., die allmählig unregelmäßig und langsam werden, nach $1\frac{1}{2}$ Stunden nur noch 22 betragen, nach 2 Stunden 9. — Tod nach $2\frac{1}{2}$ Stunden.

Der Rückstand bei der Filtration (100,0 grm.) wird noch weiter mit Petroläther behandelt, zuerst 3 Tage, dann 4 Tage. Die Filtrate werden gefammelt, der Petroläther abdestillirt, verdunstet. — Der gefammte Trockenrückstand beträgt ca. 1 grm.

Die so mit Petroläther behandelten 100,0 grm. Substanz wurden nun getrocknet. Um zu eruiren, ob noch einige Wirksamkeit vorhanden, suspendire ich etwa 1 grm. vom Pulver in 1 L. Flw. Letzteres übt noch eine recht energische Wirkung auf die hineingebrachten Fische aus.

Durch Behandeln mit Petroläther kann man also zwar die Subst. theilweise extrahiren, aber das Holz nicht erschöpfen; das Gift löst sich nur schwer darin, doch bekommt man ein Extract, das recht energisch wirkt, bedeutend stärker als eine wässrige Lösung.

Der Rückstand der 100,0 grm. Substanz wird zur späteren Benutzung aufgehoben. Dafs die Subst. leichter in Petroläther als in Wasser löslich ist, wird durch folgenden Versuch ebenfalls bewiesen: Ich nehme 5,0 grm. Substanz, koche sie 20 Minuten lang mit 100 Ccm. Wasser, filtrire, wasche den Rückstand wiederholt mit Wasser nach, trockne dann das Pulver und extrahire es mit Petroläther (8 Tage). Auf diese Weise erhalte ich ein Petroläther-Extract, welches noch deutliche Wirkung auf Fische zeigt. Petroläther extrahirt demnach aus dem mit Wasser möglichst erschöpften Holz noch wirksame Substanz, eignet sich also besser zur Extraction des Giftes als Wasser.

50,0 grm. Substanz werden mit 250 Ccm. Aether extrahirt (8 Tage), filtrirt (wobei ebenfalls noch mit Aether nachgewaschen wird), der Aether überdestillirt bis auf einen kleinen Rest, welcher an der Luft verdunstet. Die Extraction wird einige Male wiederholt. Der gesammte Trockenrückstand beträgt 0,8985 grm. Von diesem **«Versuchsreihe X»** bewirkte 0,01 grm. mit $\frac{1}{2}$ L. Flw. bei einem Fisch nach $\frac{1}{2}$ Stunde die ersten Vergiftungserscheinungen, der Tod des Thieres trat nach 4 Stunden ein.

5,0 grm. Subst. werden mit 100 Ccm. Alcohol (95 °) 4 Stunden gekocht, hierauf 20 Ccm. abfiltrirt, der Rest kocht weiter, ebenfalls 4 Stunden. Dann werden wieder 20 Ccm. abgenommen, das Uebrige weiter erhitzt, etc. Im Ganzen gewinne ich dabei 4 Präparate, die, nachdem der Alcohol verdunstet ist, zu Versuchen benutzt werden, jedes in einem Liter Flusswasser suspendirt.

Versuchsreihe XI.

Die Wirkung auf die Versuchsthiere war folgende:

1. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde bleibende Rückenlage bei stark verlangsamter Athmung. Tod nach 35 Minuten.
2. Tod nach 40 Minuten.
3. Tod nach 50 Minuten.
4. Tod nach 75 Minuten.

Die Substanz (5,0 grm.), die im Ganzen 16 Stunden mit Alcohol gekocht worden, wird nun noch viele Mal mit Alcohol durchgewaschen, dann getrocknet, hierauf mit 60 Ccm. Wasser 2 Stunden gekocht, filtrirt, — das Filtrat welches 50 Ccm. beträgt, wird mit einem Liter Flußwasser verdünnt, hat jedoch gar keine toxische Wirkung mehr auf Fische, wie mehrere Versuche beweisen.

Durch Extraction des Holzes mit Alcohol war fomit sämmtliches Gift, soweit es nicht bei der Procedur zersetzt war, in denselben übergegangen, der Rückstand war wirkungslos. — Also kann man durch Alcohol die Subst. erschöpfen und erhält ein Extract, das bedeutend energischere Wirkung zeigt, als die vorhergehenden durch Wasser, Petroläther und Aether gewonnenen. —

Die Freude, das geeignetste Extractionsmittel gefunden zu haben, wurde zunächst getrübt durch die Angabe Thomsons, daß eine alcoholische Lösung sich beim Erhitzen noch leichter zersetze, als eine wässrige. Zur genauen Feststellung dieses Verhaltens koche ich 5,0 grm. Subst. 4 Stunden mit 100 Ccm. Alcohol und filtrire darauf die ganze Menge. Nachdem ich vom Filtrat 20 Ccm. abgenommen, koche ich den Rest 4 Stunden weiter, nach abermaliger Entfernung von 20 Ccm. ein zweites und drittes Mal.

Auf diese Weise erhalte ich 4 Präparate vom ursprünglichen Filtrat, die verschieden lange Zeit der Hitze aus-

gefetzt waren. Nach Verdunstung des Alcohols werden sie zum Versuch benutzt — mit 1 L. Flw. verdünnt. Die Wirkung auf die hineingebrachten Fische war folgende :

Versuchsreihe XII.

1. (1. Filtrat.) Nach $\frac{1}{4}$ Stunde deutliche Neigung zur Seitenlage, Tod nach 40 Minuten. —
 2. (Filtrat, 4 St. gekocht.) Tod nach 60 Minuten. —
 3. (Filtrat, 8 St. gekocht.) Tod nach 40 Minuten. —
 4. (Filtrat, 12 St. gekocht.) Tod nach 65 Minuten.
- Controlversuche hatten fast das gleiche Resultat. —

Die Versuchsreihe XII giebt uns sehr werthvolle Aufschlüsse. — In Ergänzung zu Versuchsreihe XI zeigt sie, daß Alcohol entschieden am geeignetsten zur Gewinnung des Giftes ist. Wir können ohne Schaden, ohne die geringste Einbuße an wirksamer Subst. eine alcoholische Lösung stundenlang erhitzen, den Alcohol überdestilliren und so die Substanz einengen. Die Thomson'sche Angabe über die leichte Zerfetzlichkeit einer alcoholischen Lösung kann ich daher nicht bestätigen.

Ein alcoholisches Extract hat, wie die letzten Versuchsreihen beweisen, die stärkste Wirkung und enthält die ganze Menge des im Holze gewesenen Giftes; daher stelle ich mir jetzt zu den neuen Versuchsreihen eine größere Menge des Extractes dar. —

100,0 grm. Substanz werden im Wasserbade mit 500 Ccm. Alcohol (95") gekocht, filtrirt, der Alcohol überdestillirt — zum größten Theil — der Rest verdunstet. Der Rückstand beträgt 1,842 grm.

Um die minimale toxische Gabe kennen zu lernen, benutze ich dieses Extract zu der nächsten

Versuchsreihe XIII.

Vom Extract führte den Tod eines Fisches herbei:

1) 0,02	gramm. Subst. mit $\frac{1}{2}$ L. Flw. in 25 Min.	
2) 0,01	» » » »	35 »
3) 0,005	» » » »	45 »
4) 0,0025	» » » »	75 »
5) 0,00125	» » » »	75 »
6) 0,000625	» » » »	80 »
7) 0,0003125	» » » »	1 $\frac{1}{2}$ Stund.
8) 0,00015625	» » » »	3 »
9) 0,000078125	» » » »	6 »
10) 0,0000390625	» » » »	hatte keine Wirkung mehr.

Diese Zahlen beweisen deutlich, daß die Substanz mit Recht den Namen «Fischgift» trägt; $\frac{7}{100}$ mgrm. haben noch tödliche Wirkung. Vor allem müssen wir dabei noch berücksichtigen, daß das Gift nur einen Theil des Extractes — in welchem auch verschiedene andere Körper enthalten sind, die sich in Alcohol lösen — beträgt; die toxische Dosis muß also noch tiefer gegriffen werden.

Bisher war Picrotoxin als ein sehr energisches Fischgift bekannt, es wird jedoch von diesem noch bedeutend übertroffen. Zum Schluß meiner Arbeit will ich zum Vergleich einige Versuche mit Picrotoxin anführen.

Bei der letzten Versuchsreihe benutzte ich ein Präparat, das ich durch die erste Extraction des Holzes mit Alcohol erhalten hatte. Durch einmalige Extraction wird aber das Holz noch nicht erschöpft, daher machte ich neue Extracte aus derselben Substanz im Ganzen 5, die allerdings weniger wirksam waren, (jedes folgende weniger als das vorhergehende). Nach 5-maliger Extraction erwies sich erst die

zurückbleibende Substanz als unwirksam. Die Extracte wurden alle gemischt und in kleinen Präparatengläsern wohlverkorkt aufbewahrt. 100,0 grm. des gepulverten Holzes lieferten in Summa 3,566 grm. Extract.

Die mit Petrolaether behandelten 100,0 grm. Substanz (Versuchsreihe IX) wurden auch noch mit Alcohol extrahirt (4 Mal), und da sich das Extract noch immer recht wirksam zeigte, wurde es zu obigem zugelegt; es waren fast 2,0 grm.

Bevor ich auf die Isolirungsverfuche des Giftes übergehe, will ich noch eine Versuchsreihe anführen, die zeigen soll, das ein alcoholisches Extract energischer wirkt, als ein durch Aether, resp. durch Petroläther gewonnenes.

Versuchsreihe XIV.

A. Alcohol extract.

0,005 gelöst in 100 Ccm. Wasser. Von der Lösung nehme ich:

1. 40 Ccm. (entsprechend 0,002 Extr.) und mische dieselben mit $\frac{1}{2}$ L. Flw. Der hineingelegte Fisch zeigt nach $\frac{1}{4}$ Stunde die ersten Betäubungsercheinungen. Tod nach ca. 3 Stunden.

2. 20 Ccm. (0,001 Extr.) — $\frac{1}{2}$ L. Flw. Nach 25 Min. die ersten Vergiftungssymptome. Tod nach 6 $\frac{1}{2}$ Stunden.

3. 10 Ccm. (0,0005 Extr.) — $\frac{1}{2}$ L. Flw. Nach 1 Stunde 15 Min. beginnende Betäubung. — Nach 24 Stunden hat sich aber das Thier vollständig erholt.

4. 5 Ccm. (0,00025 Extr.) — $\frac{1}{2}$ L. Flw. Nach 5 Stunden leichte Betäubung — nach 24 Stunden aber wieder vollständige Erholung. Das Thier bleibt am Leben.

5. 2,5 Ccm. (0,000125 Extr.) — $\frac{1}{2}$ L. Flw. Keine Wirkung.

B. Aetherextract.

0,002 in 100 Ccm. Wasser gelöst. Davon:

1. 25 Ccm. (0,0005 Extr.) — $\frac{1}{2}$ L. Flw. 1 Fisch. Eintritt der Vergiftungssympt. nach 2 Stunden. Am anderen Tag Tod.

2. 12,5 Ccm. (0,00025 Extr.) — $\frac{1}{4}$ L. Flw. Keine Wirkung.

3. 6,25 Ccm. (0,000125 Extr.) — $\frac{1}{2}$ L. Flw. Keine Wirkung.

C. Petrolätherextract.

1 mgrm. Extr. in $\frac{1}{2}$ Liter Flußwasser bewirkt den Tod eines kleinen Fisches, ein etwas größerer bleibt am Leben. $\frac{1}{2}$ und $\frac{1}{4}$ mgrm. haben keine Wirkung.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß ein ätherisches Extract etwa gleiche Wirkung mit dem alcoholischen hat. Petroläther nimmt aber gegenüber den beiden ersten eine sehr untergeordnete Stellung ein ¹⁾.

Ganz interessant ist die Thatsache, die auch durch die letzte Versuchsreihe gezeigt wird, nämlich, daß das Gift in Wasser gelöst, sich so schnell und vollständig zersetzt und dadurch wirkungslos wird, daß ein Fisch, der schon deutliche Vergiftungserscheinungen zeigt, sich in derselben Flüssigkeit sogar vollständig erholen kann. (Siehe XIV. A. 3.)

1) Anmerk.: Man wundere sich nicht, daß das Alcoholextract jetzt eine viel weniger energische Wirkung zeigt, als in Versuchsreihe XIII. Hier benutzte ich aber die Mischungen aller durch die fünfmalige Extraction erhalten Präparate, während dort das erste Extract zur Anwendung kam.

Bisher hatte ich zu meinen Versuchen nur eine Fischart benützt: (von der Familie Cyprinus) sie waren fast alle von gleicher Grösse, die Gewichte schwankten nur zwischen 0,5—1,5 grm. Jetzt verschaffte ich mir auch andere Fische und zwar von verschiedener Grösse. Leider war die Auswahl keine sehr grosse, trotz wiederholter Bemühungen mußte ich auf viele Arten verzichten; sie waren einfach nicht zu erlangen. Die Resultate dieser Versuche sind recht interessant, einige vollständig überraschend.

Versuchsreihe XV.

5 grm. Substanz werden in 100 Ccm. Wasser $\frac{1}{4}$ Stunde lang gekocht, filtrirt; vom Filtrat:

1. 20 Ccm. genommen und mit 1 L. Flw. verdünnt. Hierauf bringe ich 2 Barsche (*Perga fluviatilis*) (Gew. 7,0 und 5,0) hinein. Sehr bald schon treten die Vergiftungssymptome ein. Das Stadium der Aufregung tritt besonders deutlich bei ihnen zu Tage, namentlich die blitzartigen Bewegungen, wobei zuweilen förmliche Kreise, sowohl in horizontaler als verticaler Richtung beschrieben werden; die Thiere versuchen mehrere Male durch hohe Sprünge sich aus der ihnen unangenehmen Flüssigkeit zu befreien. Im Allgemeinen ist der Symptomencomplex dem in «Versuchsreihe I» beschriebenen gleich. — Der Tod der Thiere erfolgt nach ca. 4 Stunden.

2. In dieselbe Flüssigkeit bringe ich 2 Karauschen (*Cyprinus carassius vulgaris*). Diese sind nach 2×24 Stunden noch ganz munter, es tritt keine erkennbare Wirkung bei ihnen ein.

3. 0,1 grm. Alcoholextract — $\frac{1}{4}$ Liter Flußwasser hatte ebenfalls keine Wirkung auf Karauschen.

4. 0,1 grm. Aetherextr. — $\frac{1}{2}$ Liter Flußwasser auch keine Wirkung.

5. 10 grm. gepulverten Holzes werden mit 100 Ccm. Wasser $\frac{1}{4}$ Stunde gekocht, filtrirt, und sämmtliches Filtrat wird mit 1 L. Flw. verdünnt. Darauf legte ich 2 Karasfische in die Flüssigkeit; sie leben darin noch nach 4 Tagen und sind ganz munter.

Bei 2 Barschen tritt der Tod schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde in dieser Lösung ein, bei 2 Weißfischen in etwa 20 Min.; ebenso bei Gründlingen [*Cyprinus Gobio*].

6. 0,05 Alcoholextr. — 1 L. Flw. Ein Hecht [*Esox lucius*] (Gew. 8,0) wird in die Flüssigkeit gebracht; derselbe zeigt nach $\frac{1}{4}$ Stunde die beginnenden Betäubungsercheinungen nach vorhergegangener starker Unruhe. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde verendet das Thier.

7. 0,2 Alcoholextr. werden in ca. 10 L. Flw. suspendirt, das Ganze in eine große Schüssel gegossen und 2 Fische hineingelegt — 1 Hecht 218 grm. schwer und 1 Bleyer 260 grm. schwer. Beide Thiere verenden nach kurzer Zeit

Mit diesen Thieren mußte ich mich begnügen, obgleich gerade die erhaltenen Resultate erst recht zu neuen Versuchen aufforderten. Besonders gern hätte ich meine Experimente auf Schleyen «*Cyprinus tinca*» und Quappen «*Lota vulgaris*» — ausgedehnt, es konnte mir aber kein Fischer in Dorpat einen Schley verschaffen. Quappen erhielt ich allerdings, — große und kleine Thiere, doch starben sie schon nach einigen Stunden der Gefangenschaft; nicht eine einzige konnte ich am Leben erhalten. Ich behalte mir aber vor, meine Versuche unter günstigeren Verhältnissen mit diesen und noch anderen Fischklassen weiter fortzuführen.

Barfche und Hechte find besonders empfindlich, wie aus den letzten Versuchen hervorgeht. Merkwürdig und überraschend ist aber der Umstand, daß auf Karauschen keine nachweisbare Wirkung durch das Gift erzielt werden kann. — Ich kann keine Erklärung hierfür finden. Daß die Karausche mehr als fast sämtliche anderen Fische ungünstige und schlechte Lebensbedingungen ertragen kann, ist bekannt. Jedenfalls aber muß der Grund der Wirkungslosigkeit nicht hierin gesucht werden, denn, wie am Schluß meiner Arbeit ersichtlich, wirkt Picrotoxin schon in kleinen Mengen auf Karauschen ein; das Wasser bleibt dabei ganz klar. —

Ich habe zwar nach einem Grunde für das merkwürdige Verhalten gesucht, welchen ich in bestimmten physiologischen Verhältnissen im Leben der Karauschen vermuthete, doch habe ich Nichts finden können, wodurch sich die Karausche etwa von andern Fischen unterscheidet. Vielleicht bringen weitere Versuche mit andern Fischklassen Licht in dieses Dunkel, das einstweilen unaufgeklärt bleiben muß.¹⁾

Nachdem nun durch die gewesenen Versuchsreihen die wichtige Frage nach der vortheilhaftesten Extraction des Giftes Beantwortung gefunden, harrten zunächst 2 neue Aufgaben ihrer Lösung: «Kann man die wirksame Subst. rein darstellen?» (die Extracte enthielten eine Menge Verunreinigungen) und «Was für einen chemischen Körper stellt das Gift vor?»

Ein alcoholisches Extract enthält am meisten wirksame Subst., daher versuchte ich zunächst in diesem eine Trennung des Giftes von den unwirksamen Verunreinigungen

1) In der Nahrungsweise unterscheidet sich die Karausche auch nicht von andern Fischen.

herbeizuführen. 1,0 grm. alcoh. Extr. wird mit 20 Ccm. Aether behandelt. Etwa $\frac{3}{4}$ löst sich, der Rückstand wird noch mehrere Male mit Aether nachgewaschen¹⁾, darauf in 1 $\frac{1}{2}$ L. Flw. suspendirt und es werden dann 3 Fische in das Wasser gebracht. Diese Flüssigkeit erweist sich als vollständig wirkungslos. Die ätherische Lösung des Alcholexttractes wird zum Verdunsten aufgestellt, der Rückstand zur nächsten Versuchsreihe benutzt.

Versuchsreihe XVI.

0,002 grm. werden in 50 Ccm. Wasser gelöst — von der Lösung nehme ich:

1) 12,5 Ccm. (= 0,0005 Extr.) $\frac{1}{2}$ L. Flw.

Die hineingelegten Fische verenden nach 6—10 St.¹⁾

2. 6,25 Ccm. (0,00025 Extr.) — $\frac{1}{2}$ L. Flw. 2 Fische — nach 5 Stunden leichte Betäubung, die aber am anderen Tage geschwunden ist; die Thiere haben sich vollständig erholt.

3. 3,125 Ccm. (0,000125 Extr.) Betäubung und Erholung.

4. 1,5625 (0,0000625 Extr.) Keine Wirkung.

Das Extract hat eine etwas grössere Wirkungsenergie als das ursprüngliche alcohologische Extr.

Im flüssigen Alcholexttract entsteht durch Aether (= 4 bis 5 faches Volumen) ein Niederschlag, der unwirksam ist, daher Aether zur Einengung der wirksamen Substanz im Alcholexttract benutzt werden kann — ein Verfahren,

1) Anmerkung; Wenn kein besonderer Name genannt wird, so sind immer Weissfische von ca. 1,0 grm. Gewicht gemeint.

das ich bei der ferneren Herstellung der Extracte auch immer anwende; doch viel wird dadurch nicht erreicht, der größte Theil der Verunreinigungen bleibt noch zurück. — Außerdem hat das erhaltene Extract nicht die erwartete Wirkungsenergie; (entsprechend den entfernten unwirksamen Stoffen) eine theilweise — wenn auch unbedeutende — Zerfetzung hat bei dieser Behandlung schon Platz gegriffen.

Eine größere Menge frischen Alcoholextractes (5,0 grm.) wird mit Petroläther behandelt; mehrere Male gekocht, filtrirt, wieder filtrirt etc. Dabei ist etwa die Hälfte in Lösung gegangen; der Rest wird wieder in Alcohol gelöst. Nach Verdunstung des Petroläthers scheiden sich Kryftalle ab, lange farblose Nadeln und wawellitartig angeordnete Massen. Diese sind aber noch stark verunreinigt; das Extract ist hell rothfarben. Das Alcoholextract des in Petroläther löslichen Rückstandes ist amorph und dunkel. Mit beiden werden Versuche angestellt.

Versuchsreihe XVII.

2 mgrm. werden in 100 Ccm. Wasser gelöst — von den Lösungen werden genommen:

A) Vom Petrolätherextract:

1. 50 Ccm. (= 1 mgrm Extr.) — 1 L. Flw. 2 Barsche, 1 Weisssich. — Erstere nach 20 Min. betäubt, Tod nach 1 $\frac{1}{4}$ Stunden. Letzterer nach $\frac{1}{2}$ Stunde betäubt, Tod nach 2 \times 24 Stunden.

2. 25 Ccm. ($\frac{1}{2}$ mgrm. Extr.) — 1 L. Flw. Keine Wirkung auf die Versuchsthiere.

3. 12,5 Ccm. ($\frac{1}{4}$ mgrm. Extr.) — 1 L. Flw. Ebenfalls keine Wirkung.

B) Vom Alcoholextract.

1. 50 Ccm. (1 mgrm. Extr.) — 1 L. Flw. Tod eines Fisches nach 7 Stunden.

2. 25 Ccm. ($\frac{1}{2}$ mgrm. Extr.) Betäubung nach ca. 3 Stunden, die aber später wieder schwindet. Nach 24 St. hat sich das Thier erholt.

3. 12,5 Ccm. ($\frac{1}{4}$ mgrm. Extr.) Keine Wirkung.

Controllversuche zu diesen

A)

1. 50 Ccm. (1 mgrm. Extr.) — 1 L. Flw. 2 Fische. Außer einer leichten Betäubung, die bald der Erholung Platz macht, keine Wirkung.

2. 37,5 Ccm. ($\frac{3}{4}$ mgrm. Extr.) — 1 L. Flw. 2 Fische — keine Wirkung.

B)

1. 50 Ccm. (1 mgrm. Extr.) — 1 L. Flw. 2 Fische. Beginnende Vergiftungssymptome nach $\frac{3}{4}$ St. Tod nach ca. 8 St.

2. 37,5 Ccm. ($\frac{3}{4}$ mgrm. Extr.) — 1 L. Flw. 2 Fische. Nach 2 Stunden die ersten Symptome, Tod nach 24 Stunden.

Resultate der letzten Versuchsreihe: Der in Petroläther lösliche Antheil der in Alcohol löslichen Substanz (A) hat bedeutend schwächere Wirkung, als der in Petroläther unlösliche, bei diesem vermischt man aber auch die erwartete Wirkungsenergie; sie kommt etwa derjenigen eines frischen alcoholischen Präparates gleich.

Durch die vorgenommene Manipulation ist also auch eine theilweise Zerfetzung der wirksamen Substanz eingetreten, daher sich die angewandte Methode nicht zur Einengung, resp. Isolirung des Giftes eignet. Ein mehrmaliges Um-

krytallifirenaffen des Petrolätherextractes aus der Löfung in Petroläther hat nur eine Abschwächung in der Wirkung zur Folge; die Kryftalle werden dadurch aber nicht viel reiner erhalten.

Nun behandle ich die durch Petroläther aus dem Holz extrahirte Maffe mit verdünntem Weingeift (50 %) $\frac{1}{4}$ Stunde lang in der Wärme, filtrire darauf, löfe den im Weingeift unlöslichen Rückstand wieder in Petroläther, laffe letzteren verdunften und benutze die auf diese Weise erhaltene Maffe, die hellgrau gefärbt und amorph ist, zur nächsten Versuchsreihe.

Versuchsreihe XVIII.

Sie erweist sich als sehr schwach wirkend und nach abermaliger Behandlung mit verdünntem Weingeift, ist sie völlig wirkungslos.

Das Filtrat (Löf. des abgefchied. Petrolätherextractes in verdünntem Weingeift) laffe ich verdunften und erhalte dann eine hellgelbe, amorphe, harzige Maffe. Von dieser werden 5 mgrm. genommen, in 100 Ccm. Wasser gelöst, diese Löfung zur nächsten Versuchsreihe benutzt.

Versuchsreihe XIX.

1. 40 Ccm. (2 mgrm. Extr.) — 1 Liter Flußwasser.
1 Fifch. — Eintritt der Vergiftungsfymptome nach $1\frac{1}{2}$ St.
Tod nach 8 Stunden.

2. 20 Ccm. (1 mgrm. Extr.) — 1 Liter Flußwasser.
Nach 2 Stunden die ersten Erfcheinungen. Tod nach ca. 20
Stunden.

3. 10 Ccm. ($\frac{1}{2}$ mgrm. Ext.) — 1 Liter Flusswasser.
Tod nach ca. 30 Stunden.

4. 5 Ccm. ($\frac{1}{4}$ mgrm. Ext.) — 1 Liter Flusswasser.
Keine Wirkung.

Durch Behandeln des Petrolätherextractes mit verdünntem Weingeist kann man also die wirksame Substanz extrahiren. Der Rückstand wird unwirksam, nichtsdestoweniger zeigt aber das neu erhaltene Extract doch nicht eine grössere Wirkungsenergie; sie kommt etwa derjenigen eines frischen alcoholischen Extractes gleich. Auch hier ist demnach ein Theil der wirksamen Substanz zerfetzt.

Von dem durch Petroläther aus einem frischem Extr. abgeschiedenen Alcholeextract wird ein Theil in Alcohol gelöst (d. h. Alles in Petroläther sich Löfende ist entfernt), dann durch Wasser ein Niederschlag bewirkt, hierauf filtrirt. Sowol der Niederschlag, als auch das Filtrat werden mit 1 L. Flw. verdünnt und auf je 2 Fische versucht. Sie haben fast gleiche Wirkung — nach $2\frac{1}{2}$ St. verenden die Thiere.

Das vom Alcholeextract abgeschiedene Petrolätherextract ist, selbst in starker Natronlauge nicht löslich, das abgeschiedene Alcholeextract aber schon in schwacher Natronlauge beim Erwärmen zum grössten Theil löslich, und wird aus dieser Löfung durch $\text{SH}_2 \text{O}_4$ gefällt,

Vom abgetrennten Alcholeextract wird nun eine kleine Menge in verdünnter Natronlauge gelöst, filtrirt, das Filtrat mit $\text{SH}_2 \text{O}_4$ versetzt. Es entsteht ein Niederschlag, der wieder abfiltrirt, darauf getrocknet und zur nächsten Versuchsreihe benutzt wird.

Versuchsreihe XX.

2 cgrm. gelöst in 100 Ccm. Wasser — von dieser Löfung:

1. 10 Ccm. (0,002) — 1 L. Flw.
2. 5 Ccm. (0,001) — 1 L. Flw.
3. 2,5 Ccm. (0,0005) — 1 L. Flw.

Es tritt in keinem Falle eine Wirkung ein. Ebenso fehlt dem Rückstand bei der Lösung in Natronlauge jegliche Wirkung. Das Gift hat sich also unter dieser Behandlung vollkommen zerfetzt.

Ein frisches alcoholisches Extract wird mit 66 % Alcohol behandelt, filtrirt, das Filtrat verdunstet. — Von dem jetzt bleibenden Trockenrückstand werden 0,002 in 100 Ccm. Wasser gelöst und zur nächsten Versuchsreihe benutzt.

Versuchsreihe XXI.

1. 50 Ccm. (1. mgrm.) — 1. L. Flw. 2 Fische — Tod nach ca. 7 St.
2. 25 Ccm. ($\frac{1}{2}$ mgrm.) — 1 L. Flw. Tod nach ca. 24 St. —
3. 12,5 Ccm. ($\frac{1}{4}$ mgrm.) — 1 L. Flw. Keine Wirkung.

Der Rückstand, den man bei der Filtration nach der Lösung in verdünntem Alcohol erhielt, wird in Petrolaether gelöst; das so erhaltene Extract hat allerdings noch eine Wirkung, die aber schon recht schwach ist. — Was sich nicht in Petrolaether löst und wieder in Alcohol gelöst wird, zeigt sogar auch noch eine Wirkung.

Alle diese Manipulationen beweisen aufs Neue die leichte Zerfetzlichkeit des Giftes; daß es fast unmöglich ist, das Gift unzerfetzlich zu isoliren, geht noch deutlicher durch die weiteren Versuche hervor.

Um zu erfahren, ob nicht der in Wasser vertheilte wirkfame Bestandtheil durch Ausschütteln reiner gewonnen werden kann, wird frisches Alcoholextr. in wenig Wasser verrieben, hierauf filtrirt. Das Filtrat, das eine sehr energische Wirkung auf Fische zeigt, wird mit Petroläther ausgeschüttelt. Nach Verdunsten desselben bleibt ein kleiner Rückstand, der wirkungslos ist. Die mit Petroläther erschöpfte wässrige Lösung hat noch immer starke Wirkung.

Eine Ausschüttelung mit Aether hat denselben Erfolg.

Dafs durch Ausschüttelung mit anderen Flüssigkeiten nichts erreicht werde, war anzunehmen, da sogar durch Aether, welcher das Gift leicht löst, es nicht möglich war, das Gift zu isoliren. Dafs andere Flüssigkeiten viel schwerer die wirkfame Substanz gewinnen lassen, z. Th. weil in ihnen dieselbe sich relativ schnell zersetzt, wird später gezeigt werden.

Auch Thomson hat bei seiner Arbeit alle möglichen Ausschüttelungsversuche ohne jeden Erfolg gemacht.

1,0 frisches Alcohol-Extract wird mit Chloroform behandelt, etwa $\frac{9}{10}$ geht in Lösung, der Rückstand erweist sich als vollkommen unwirkfam. Vom Trockenrückstand, den ich nach Verdunsten des Chloroformauszuges erhalten, wird 0,01 in 100 Ccm. Wasser gelöst und für die nächste Versuchsreihe benutzt.

Versuchsreihe XXII.

1. 50 Ccm. (0,005 Ext.) — 1 L. Flw. 2 Fische — schnell eintretende Wirkung, nach 20 Min. die ersten Symptome. — Tod nach kurzer Zeit.

2. 10 Ccm. (0,001 Ext.) — 1 L. Flw. 3 Fische. Keine Wirkung.

3. 5 Ccm. (0,0005 Ext.) — 1 L. Flw. Keine Wirkung. Trotzdem zu erwarten stand, daß obiges Extract eine sehr energische Wirkung zeigen würde, so wurde doch diese Erwartung abermals nicht bestätigt; es war eine deutliche Abschwächung eingetreten.

Eine gewisse Menge vom Chloroformextract wird in kaltem Petroläther gelöst, der Rückstand wieder in kaltem Chloroform und die filtrirte Lösung verdunstet. Die auf diese Weise gewonnenen Extracte zeigen folgendes Verhalten:

Versuchsreihe XXIII.

A. In Petroläther lösliche Subst. (klebrig-gelbe Masse).

1. 0,01 — 1 Liter Flusswasser. Tod der Versuchsthiere nach ca. 8—12 Stunden.
2. 0,005 — 1 L. Flw. Tod nach 24 Stunden.

B. In Petroläther unlösliche Substanz.

1. 0,01 — 1 L. Flw. 2 Fische. Tod nach 6—10 St.
2. 0,005. — 1 Liter Flusswasser. 2 Fische. Tod nach ca. 24 Stunden.

0,5 frisches Alcoholextract wird in kaltem Benzin gelöst, der Rückstand wieder in Alcohol, beide Lösungen werden verdunstet.

Versuchsreihe XXIV

mit dem in Benzin löslichen Antheil.

1. 0,01 — 1 L. Flw. 2 Fische. Nach 4 St. die ersten Vergiftungssymptome. Tod nach ca. 12 St.
2. 0,005 — 1 L. Flw. 2 Fische. Keine Wirkung.
3. 0,0025 — 1 L. Flw. 2 Fische. Keine Wirkung.

Der in Benzin unlösliche Antheil unterschied sich in seiner Wirkung fast garnicht von dem frischen Alcholeextract, war fast noch weniger wirksam.

Die in Chloroform lösliche Masse wird mit Benzin behandelt (ebenfalls ohne Erhitzung) der Rückstand nochmals in Chloroform gelöst, beide Lösungen werden verdunstet.

Versuchsreihe XXV.

A. In Benzin lösliches.

1. 0,01 — 1 L. Flw. 3 Fische, nach 6 St. Betäubung, nach 20 St. Tod.
2. 0,005 — 1 L. Flw. 2 Fische. Tod nach 30 St.

B. In Benzin unlösliches.

1. 0,01 — 1 L. Flw. 2 Fische. Tod nach 6 St.
2. 0,005 — 1 L. Flw. 2 Fische. Tod nach ca. 10 Stunden.

Die 3 letzten Versuchsreihen zeigen wiederum, das auch durch weitere Manipulation ohne Erwärmen (bisher war fast stets behufs besserer Lösung erhitzt worden) eine Zersetzung der wirksamen Substanz herbeigeführt wird; durch jede neue Lösung büßt das Gift an Wirksamkeit ein, die Hoffnungen auf eine Möglichkeit der Isolirung werden dadurch immer geringer.

Eine grössere Menge vom frischen Alcholeextract (das zum Theil krySTALLINISCH war), bei welchem der Alcohol noch nicht vollkommen verdunstet war — etwa 40 Ccm. Mutterlauge waren noch vorhanden — wird von der Mutterlauge

abfiltrirt, das Ausgeschiedene mehrere Male mit verdünntem Weingeist ausgewaschen; es entfärbt sich dabei fast vollständig, wird grauweiß und erweist sich als amorph. Diese Masse wird auf einer porösen Thonplatte zum Trocknen ausgebreitet. Nach einigen Tagen wird die Masse zum Versuch herangezogen, erweist sich aber als vollständig unwirksam. — Es befindet sich demnach im Alcoholextr. eine bedeutende Menge harziger Substanz, die nur in starkem Weingeist löslich ist und keine Wirkung auf Fische ausübt. Blaues Lackmuspapier bekommt durch diesen Rückstand einen röthlichen Schimmer, die Reaction ist demnach schwach sauer.

In dem Extr., das man nach Verdunsten der Mutterlauge des verdünnten Weingeistes, den man zum Ausschütteln benutzt hat, erhält, findet man Krystalle; das Extract zeigt jedoch keineswegs die vorausgesetzte Wirkungsenergie, wie nächststehende Versuchsreihe zeigt.

Versuchsreihe XXVI.

1. 0,001 — 1 L. Flw. 3 Fische. Nach ca. 6 St. Betäubung. — Tod nach 24 St.
2. 0,0005 — 1 L. Flw. Keine Wirkung.

0,02 frisches Alcoholextract wird mit ebenso viel kohlenfaurem Natron verrieben. Bei tropfenweisem Wasserzuzusatz entsteht eine dickliche Masse, und eine ziemlich gleichmäßige Vertheilung des Extractes, (nicht wie bei den andern Lösungen, wo kleine Partikelchen im Wasser suspendirt waren). Diese Masse wird mit 1 L. Flw. verdünnt.

Die toxische Wirkung auf die Versuchsthiere tritt hierbei schneller ein, als bei den vorhergehenden Versuchen.

Zur Controlle werden 0,02 kohlenfaures Natron in 1 L. Flw. gelöst und ein Fisch hineingethan.

Es tritt keine Vergiftung ein; das Thier ist nach mehreren Tagen noch ganz munter.

0,02 frisches Alcoholextract werden wieder mit ebenso viel kohlenfaurem Natron unter allmähligem Wasserzuzatz verrieben, die Lösung aber dann filtrirt. Das Filtrat wirkt auch noch recht energisch, wenngleich nicht so sehr wie obiges.

Der Rückstand bei der Filtration zeigt gleichfalls noch recht starke Wirkung.

Alle Isolirungsversuche, die vielfach noch durch Controllversuche — die ich nicht näher angegeben habe — geprüft wurden, haben somit ein negatives Resultat ergeben. Der Grund dafür liegt einzig und allein in der eminent leichten Zeretzlichkeit der wirksamen Substanz; jedwede Behandlung derselben durch Hitze, Lösungsmittel etc. . ., ja selbst durch einfaches längeres Stehenlassen in Wasserlösung, etc. — führt eine Abschwächung in der toxischen Wirkung herbei. Ich bin daher geneigt, anzunehmen, daß das frische Holz vielleicht noch viel giftiger ist, als die getrockneten Stücke, die mir zur Untersuchung zu Gebote standen. Durch die allmähliche Verdunstung der im frischen Holze enthalten gewesenen Flüssigkeit kann jedenfalls auch schon theilweise Zeretzung eingetreten sein. Sicher läßt sich das allerdings jetzt nicht feststellen. — Wenngleich nun auch die Reindarstellung des Giftes unmöglich war, so haben doch die verschiedenen Versuche mit Fischen manches Neue und Interessante zu Tage gefördert.

Von Lösungsmitteln des Giftes haben wir Wasser,

Petroläther, Benzin, Alcohol, Aether und Chloroform kennen gelernt; die drei ersten vermögen die Subst. nur schwer aufzunehmen, eine Erschöpfung des Holzes kann mit ihnen nicht erlangt werden. Aether, Alcohol und Chloroform eignen sich jedoch vorzüglich zur Extraction, man kann mit ihnen vollständige Erschöpfung erzielen. Die Zeretzlichkeit der einzelnen Lösungen ist eine verschiedene; am schnellsten und vollständigsten tritt dieselbe in wässriger Lösung ein, besonders beim Erhitzen. Wenige Stunden genügen, um vollständige Wirkungslosigkeit herbeizuführen, (Siehe Versuchsreihe VIII), denn die Zeretzungsproducte sind eben wirkungslos. Auch in der Kälte tritt eine verhältnismässig schnelle Zeretzung ein, die durch Zusatz von Säuren noch beschleunigt wird. Eine alcoholiche Lösung wird durch Kochen nicht zeretzt. (Siehe Versuchsreihe XII).

Was die pharmacologische Wirkung auf Fische anbelangt, so kann man deutlich 2 Stadien erkennen; ein Stadium der Excitation und eins der darauffolgenden Lähmung. Das erste Stadium ist aber nur von ganz kurzer Dauer, tritt bei vielen Versuchsthiere nur ganz vorübergehend ein, um dem zweiten — dem Stadium der Lähmung, in dem die Thiere sich nicht mehr bewegen können — Platz zu machen. Dieses dauert unverhältnissmässig lange, bis es schliesslich ohne deutlichen Uebergang zum Tode führt. — Hieraus lässt sich jetzt schon einigermaßen erkennen, dass wir es mit einem Nervengift zu thun haben; durch die speciellen Untersuchungen, welche ich später anführen will, tritt das noch deutlicher hervor. Am merkwürdigsten ist immer die Thatsache, dass das Gift nicht auf alle Fische wirkt.

D. Chemischer Theil.

Was für ein Körper ist das Gift?

Dadurch, daß das Gift nicht rein dargestellt werden konnte, wurde die Untersuchung darüber, mit was für einem Körper wir es hier zu thun haben, bedeutend erschwert. — Zunächst dachte ich an ein Alcaloid — resp. Glycosid. Ersteres konnte ich jedoch durch das Ergebnis nachstehenden Versuches ausschließen: 1,0 gm. alcoholisches Extract wird in Chloroform gelöst — etwa $\frac{9}{10}$ geht in Lösung. Nachdem von dieser das Chloroform verdunstet ist, erweist sich das nachgebliebene trockene Extract als ein recht energisch auf Fische wirkendes. Dieses Extract prüfe ich nun auf Stickstoffgehalt durch die Laiffaigne'sche N-Probe: Eine kleine Menge wird mit metallischem Natron in einem Reagenzglas geglüht; nach völligem Verbrennen des Metalls wird der Rückstand mit wenig Wasser behandelt, filtrirt, und die filtrirte Lösung mit Eisenvitriol und Eisenchlorid versetzt. Zum Schluss füge ich Salzsäure im Ueberschuß zu. Es entsteht dabei kein blauer Niederschlag von Berlinerblau, der bei einem Gehalt von N. sich unbedingt hätte bilden müssen, da durch Glühen von Natrium mit einer N-haltigen organischen Substanz Cyannatrium entsteht. Dieser Versuch wurde mehrfach mit demselben Erfolge wiederholt. Im frischen Alcohol-extract war N. enthalten; dieser blieb bei der Lösung des Extractes in Chloroform im Rückstande ($\frac{1}{10}$) zurück. Dieser N-haltige Rückstand erwies sich aber bei den Fischversuchen als unwirksam.

Mithin ist der giftige Bestandtheil im Holze nicht N-haltig, kann daher kein Alcaloid sein. Ein Glycosid ist das

Gift auch nicht. Nach längerem Erwärmen einer wässrigen Lösung unter Zusatz von Schwefelsäure wird kein durch alkalische Kupferlösung nachweisbarer Zucker abgespalten. Die wirksame Substanz steht wahrscheinlich den Harzkörpern nahe, sie löst sich leicht auf in Flüssigkeiten, welche sich überhaupt zum Lösen der Harze eignen. Mit Soda verrieben, entsteht bei Wasserzuzug eine dickliche, ziemlich homogene Masse. In Wasser scheint sie, nachdem sie isolirt worden, schwer löslich zu sein. Die Reaction der möglichst wirksamen Subst. ist neutral; aus einer Na_2CO_3 -Lösung wird nach Zusatz des Extractes keine Kohlensäure ausgetrieben.

Reactionen.

Ich bereite mir eine möglichst concentrirte wässrige Lösung des Alcoholextractes, die nach der Filtration hellgelb und klar ist. Diese versetze ich mit nachstehenden Reagentien:

I. Mit Eisenchlorid wird die Lösung dunkler und dunkelt beim Schütteln mit Luft allmählig nach — schließlich wird sie rostbraun.

Schwefelsaures Eisenoxydul giebt keinen Niederschlag, die Lösung wird aber dunkler und bekommt eine olivengrüne Farbe. Es wäre möglich, daß diese Eisenreactionen z. Th. durch geringe Mengen vorhandenen Gerbstoffes bedingt sind. Neutrales essigsaures Blei ruft eine schwache Trübung hervor. Basisch essigsaures Blei giebt einen starken Niederschlag. Kaliumbichromat ruft kaum eine erkennbare Veränderung hervor.

Kaliumbichromat mit verdünnter Schwefelsäure liefern beim Erhitzen einen stechenden Geruch, welcher aber nicht an salicylige Säure oder Chinon erinnert;

die Chromsäure wird nur sehr langsam reducirt. — Verdünnte Schwefelsäure allein giebt beim Erhitzen einen aromatischen, weniger stechenden Geruch, an Menyanthol etwas erinnernd. Beim Erkalten tritt in dieser Mischung eine leichte Trübung ein.

Effigsaures Kupfer giebt keinen Niederschlag, auch nicht, wenn es im Ueberschufs zugefetzt wird.

Salpeterfaures Queckfilberoxydul giebt einen starken weißen Niederschlag.

Bromwasser — liefert eine schwachgelbliche Trübung.

Picrinäure — keinen Niederschlag, auch nicht bei Zusatz von Schwefelsäure.

Kaliumqueckfilberjodid — keinen Niederschlag, auch nicht nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure. Jodwasser — keine besondere Veränderung.

Tannin giebt einen Niederschlag. Phosphormolybdänäure allein giebt eine Trübung, nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure einen deutlichen Niederschlag.

Kaliumwiswuthjodid giebt eine schwache Trübung und nach Zusatz von Schwefelsäure einen orangefarbenen Niederschlag.

Ferrocyankalium ruft keine Veränderung hervor.

Goldchlorid giebt eine Trübung, welche beim Erhitzen verschwindet, wobei auch die Flüssigkeit dunkler wird. Gold scheidet sich aber nicht aus. Der Geruch wird etwas aromatisch.

Salpeterfaures Silber giebt einen starken käfigen Niederschlag, der löslich in Ammoniak, unlöslich in Salpetersäure ist, (wahrscheinlich Chloride.) Beim Erwärmen ist der Niederschlag zum Theil löslich.

Mit denselben Reagentien in derselben Reihenfolge versetze ich nun eine recht concentrirte Lösung des Alcohol-extractes in verdünntem Weingeist (66 %). Das Resultat ist folgendes:

II. Mit Eifenchlorid wird die Lösung dunkler, später entsteht eine leichte Trübung.

Schwefelsaures Eisenoxydul giebt keinen Niederschlag. Auch hier wird die Lösung dunkler, wenngleich nicht in demselben Grade wie bei der wässrigen Lösung.

Neutrales effigsaures Blei ruft eine stärkere Trübung hervor. Basisch effigsaures Blei giebt einen starken Niederschlag.

Kaliumbichromat — keine Veränderung. Kaliumbichromat mit verdünnter Schwefelsäure liefern beim Erhitzen eine Flüssigkeit, welche mehr ins Grünliche spielt. (Es bildet sich Aldehyd, da Alcohol dabei ist.) Schwefelsäure allein ruft hier daselbe hervor wie bei der wässrigen Lösung.

Effigsaures Kupfer — ebenso. Salpetersaures Quecksilberoxydul ebenso.

Bromwasser giebt eine stärkere dunklere Trübung, als in wässriger Lösung.

Picrin säure — keinen Niederschlag, auch nicht nach Zusatz von SH_2O_4 — nach einiger Zeit entsteht eine leichte Trübung.

Kaliumquecksilberjodid — keine Veränderung.

Jodwasser — keine Veränderung.

Tannin giebt keinen Niederschlag.

Phosphormolybdänsäure allein — dasselbe wie bei der wässrigen Lösung.

Kaliumwismuthjodid giebt keine Trübung — erst nach Zusatz von SH_2O_4 entsteht dieselbe (orangefarben).

Ferrocyankalium ruft anfangs keine Veränderung hervor. Nach einiger Zeit entsteht ein deutlicher Niederschlag.

Goldchlorid giebt daselbe wie bei der wässrigen Lösung.

Salpeterfaures Silber giebt einen käfigen Niederschlag, löslich in Ammoniak, unlöslich in Salpetersäure — der Niederschlag wird beim Erwärmen stärker.

III. In einer 95 % alcoholischen Lösung des Extractes entsteht durch Wasserzuzatz ein starker Niederschlag.

Zum Schluß führe ich noch einige Farbenreactionen an: die Lösungen wurden auf Uhrschälchen verdunstet, auf den Rückstand einige Reagentien gebracht; sie hatten folgende Wirkung:

I. Der Rückstand der wässrigen Lösung, die nicht mit Na_2CO_3 angefertigt war: Fröhdes Reagens bewirkte ein Aufbrausen — eine schmutzig schwarzbraune Färbung trat ein.

Vanadinschwefelsäure brachte dasselbe hervor.

Concentrirte Salpetersäure läßt die Substanz ohne Farbenänderung, es findet auch kein Aufbrausen statt.

Concentrirte Schwefelsäure zeigt auch das Aufbrausen, eine röthlich-braune Färbung tritt ein.

II. In der Lösung in verdünntem Weingeist tritt genau daselbe ein wie oben, nur wird die Färbung durch Zusatz von conc. SH_2O_4 etwas dunkler.

III. In der 95 % alcohol. Lösung tritt durch keines der genannten Reagentien ein Aufbrausen ein, die Färbungen bleiben dieselben wie bei I und II — nur bei conc. Salpetersäure wird die Farbe eine braune.

Verfuche an anderen Thieren.

Nachdem ich die Substanz in ihrer Wirkung auf Fische näher untersucht, und dadurch die Angaben Thomfons theilweise bestätigt und ergänzt hatte, galt es vor Allem noch 2 weitere Fragen zu beantworten: Läßt sich auch an anderen Thieren irgend eine toxische Wirkung nach Darreichung des Fischgiftes beobachten? — In welcher Weise, auf welche Organe speciell wirkt das Gift?

Wenn auch eine allgemeine Wirkung sich ganz gut an Fischen beobachten und studiren läßt, so sind zu den meisten speciellen Untersuchungen Fische doch nicht die geeignetsten Versuchsthiere.

E. Verfuche an Blutegeln.

1) 0,1 grm. Alcohol-Extract wird mit wenig Wasser verrieben, darauf zu einem halben Liter verdünnt. In diese Flüssigkeit bringe ich 2 Thiere. Gleich anfangs merkt man deutlich, daß denselben das Wasser unangenehm ist, da sie sich nach oben — zum Rande des Gefäßes zurückziehen und vor Allem solche Stellen zu vermeiden suchen, wo etwas mehr vom Extracte angehäuft ist.

Nach 2×24 Stunden finde ich die Thiere todt, am Boden des Gefäßes liegend.

2. 0,1 grm. Alcohol-Extract — $\frac{1}{2}$ Liter Wasser, 2 Thiere. Bei diesem Versuch habe ich das Gefäß (ein Becherglas) bis an den Rand gefüllt, so daß ein Entweichen aus der Flüssigkeit nicht mehr möglich war. — Die Thiere sind

fehr unruhig, ändern fortwährend ihre Lage und Stellung — nach circa 10 Stunden sind sie nicht mehr im Stande, sich irgendwo an den Wänden festzusaugen. Sie fallen auf den Boden des Glases, wo sie einftweilen ruhig liegen bleiben. — Plötzlich machen die Thiere schlangenartige Bewegungen, deren Dauer circa 15—30 Sec. beträgt. — Diefc wiederholen sich häufig, unterbrochen von minutenlangen Pausen, in denen die Thiere bewegungslos bleiben. Allmählig werden die Bewegungen immer weniger ausgiebig und feltener, bis schließlich nach circa 12 Stunden beide Thiere verenden,

Anmerkung: Mehrere Thiere, die unter gleichen Verhältnissen, nur ohne Gift, standen, blieben vollständig gesund.

F. Verfuche an Fröfchen.

I. Application per os.

1. 0,1 grm. Alcohol-Extr. wird einem Frosch in Pillenform beigebracht. Es tritt keine toxische Wirkung ein, das Thier lebt noch nach 8 Tagen.

2. 0,1 grm. Alcohol-Extr. ebenfalls in Pillenform. Nach 2×24 Stunden wird das Thier getödtet und fecirt. Eine Veränderung an den Organen ist nicht wahrzunehmen; das Extract findet sich in dickflüffiger Form im Magen und den oberen Darmpartieen.

3. 0,5 grm. Alcohol-Extr. in Pillenform. Nach 2×24 Stunden erbricht das Thier einen Theil des nun dickflüffigen, etwas heller gewordenen Extractes.

Eine Wirkung tritt im Uebrigen nicht ein.

II. Subcutane Application.

1. Eine möglichst concentrirte wässrige filtrirte Lösung wird einem Frosch unter die Bauchhaut injicirt (1,0). Es tritt keine Wirkung ein — das Thier ist nach 8 Tagen noch ganz munter. Ein zweiter Versuch hatte dasselbe Resultat.

2. Nun nehme ich 0,1 grm. Alcohol-Extr., verreihe es mit wenig Soda, setze dann tropfenweise Wasser zu, bis ich auf diese Weise circa 1 Ccm. Flüssigkeit erhalte. — Diese wird einem Frosch subcutan beigebracht (eine Spritze). Jetzt tritt eine deutliche Wirkung ein, die folgende Symptome zeigt: Die Respirationsbewegungen, deren Frequenz bei normalen Fröschen im Mittel 120—140 in der Minute beträgt, nehmen an Zahl ab und werden unregelmäßig, bleiben aber anfangs noch recht energisch. — Pulsfrequenz normal (52 in der Min.). Das Thier hält zuweilen das Maul offen, bald längere — bald kürzere Zeit. Die Bewegungen werden ungeschickt, das Thier erscheint träge. Nach 2 Stunden ist die Athmung deutlich oberflächlich (Frequenz 90), der Frosch sieht wie aufgeblasen aus, bewegt sich spontan fast gar nicht mehr. Einzelne Extremitäten werden allerdings noch schnell und energisch angezogen, wenn man sie berührt, die Bewegungen des ganzen Körpers sind jedoch sehr wenig ausgiebig — das Thier wird deutlich matter. Nach 2½ Stunden tritt die Ungeschicklichkeit der coordinirten Bewegungen noch deutlicher hervor, auch reagirt das Thier nicht mehr so energisch auf äußere Reize. Wenn man mit einer Pincette eine Extremität faßt, so versucht der Frosch wohl noch sich loszumachen, es kostet ihm aber schon große Anstrengung und gelingt ihm schwerer als anfangs. Nach 2½ Stunden sinkt der Kopf nach unten, auf den Boden des Tellers — die hinteren Extremitäten

liegen schlaff, nach hinten gerichtet, in leichter Flexion. Bewegungen kommen nur noch bei derberen Berührungen vor, sind sehr wenig ausgiebig und recht langsam.

Nach 4 St. sind die Athembewegungen nicht mehr sichtbar — Sensibilität erloschen — Reflexe nicht mehr vorhanden. Vollständige Lähmung ist eingetreten, Herzcontractionen noch vorhanden, 20 in der Min. — Erst am andern Tage haben auch diese aufgehört — der Tod war in der Nacht eingetreten. Zuckungen und Krämpfe fehlten vollständig im ganzen Symptomencomplex, sowohl bei diesem, als bei den andern Versuchsthieren.

Section: das verendete Thier scheint stark aufgebläht, die Extremitäten deutlich ödematös. Alle Organe werden stark durchfeuchtet, ödematös angetroffen, auch Muskel und Unterhautzellgewebe. Namentlich tritt das an Magen- und Darmwandungen hervor; sie erscheinen glasig und sind leicht zerreißbar — eine Injection ist jedoch nicht zu bemerken. Die Lungen sind bedeutend erweitert, wölben sich bei Eröffnung der Leibeshöhle stark hervor — sind etwa von Haselnußgröße.

Ein zweiter Versuch mit 0,1 gm. Alcohol-Extract bei gleicher Applicationsweise brachte bei einem weitem Versuchsthier fast gleiche Wirkung hervor. Der Tod trat nach langedauerndem Lähmungsstadium nach ca. 20 St. ein. Der Sectionsbefund war derselbe wie beim obigen Versuche.

3. Ein mittelgroßer Frosch erhält 0,05 gm. Alcohol-Extract mit etwas Soda verrieben subcutan (eine Spritze). Nach 1 St. ist die Athemfrequenz schon geringer geworden als bei einem normalen Thier (66), der Lufthunger ist ziemlich deutlich sichtbar; der Frosch sperrt zuweilen das Maul auf, hält es dazwischen auch längere Zeit offen. Nach 3 St. sind die Athembewegungen nicht mehr sichtbar, die

der Extremitäten noch recht energisch, namentlich bei derberen Berührungen; coordinirte Bewegungen schon recht ungeschickt. Kurze Zeit darauf sind die hinteren Extremitäten schlaff nach hinten gerichtet, der Kopf kann nicht mehr aufrecht gehalten werden, er sinkt auf den Boden. Das ganze Thier erscheint stark aufgetrieben. Nach ca $5\frac{1}{2}$ St. kann der Frosch eine ihm gegebene Lage nicht mehr verändern (wenn man ihn auf den Rücken legt, bleibt er so liegen). Nach 7 St. ist das Thier vollkommen reactionslos. Pulsfrequenz 20, — sinkt sehr allmählig. Tod am nächsten Morgen. Sectionsbefund wie oben.

4. Ein mittelgroßer Frosch erhält 0,02 gm. Alcohol-Extract mit Soda unter allmähligem Wasserzuzatz verrieben, subcutan (eine Spritze). Erst nach 4 Stunden treten die ersten Vergiftungssymptome auf — verlangsamte Athmung, die allmählig oberflächlich und zuletzt nicht mehr sichtbar wird. Mattigkeit, Anschwellung des ganzen Körpers, Ungeschicklichkeit in den coordinirten Bewegungen. Nach 24 Stunden erst vollständige Reactionslosigkeit bei stark aufgetriebenem Körper; Herzcontractionen 14 in der Minute. — Tod nach ca. 28 Stunden. Sectionsbefund wie oben.

5. Ein Frosch erhält 0,01 gm. Alcohol-Extract ebenfalls mit Soda subcutan. Den Tag über erscheint das Thier normal — erst nach 24 Stunden bemerkt man die toxische Wirkung. Oberflächliche Athmung, Mattigkeit, Auftreibung des Leibes, mangelhafte Coordinationsbewegungen. Nach 3×24 Stunden ist vollständige Reactionslosigkeit eingetreten. Herzcontractionen 3 in der Minute. 5–6 Stunden später erfolgt der Tod. Die Section giebt den bekannten Befund.

6. 0,005 gm. Alcohol-Extract mit Soda einem mittelgroßen Frosch subcutan applicirt. Nach 2×24 Stunden

erscheint das Thier etwas aufgetrieben und matter, Athembewegungen noch recht energisch — coordinirte Bewegungen vielleicht etwas ungeschickt. Nach 4×24 Stunden daselbe Bild. Nach 8 Tagen lebt das Thier noch, erscheint etwas erholt.

7. 0,002 Alcohol-Extract haben bei gleicher Applicationsweise keine Wirkung mehr auf einen Frosch. Nach 4 Tagen noch macht er den Eindruck eines vollständig gefunden Thieres.

Als minimale Dosis, durch welche noch eine toxische Wirkung auf Frösche erzielt werden kann, habe ich somit 5 mgrm. ermittelt. Die Besprechung der Symptome behalte ich mir bei den speciellen Untersuchungen vor.

Bemerken will ich noch, das ich zur Controlle einem Frosch eine ziemlich concentrirte Soda-Lösung subcutan injicirte, ohne das dieselbe irgend welche toxische Wirkungen, bei demselben hervorrief. Der Zusatz von Soda hat somit keinen Einfluss auf die Wirkung des Giftes gehabt.

G. Versuche an Warmblütern.

I. An Vögeln.

1. Eine Taube erhält 1,0 Alcohol-Extract in Pillenform per os. Es können keinerlei Vergiftungssymptome nachgewiesen werden, auch nicht ein Mal vorübergehendes Unwohlsein — es tritt also gar keine Wirkung ein.

2. Dieselbe Taube erhält 0,1 grm. Alcohol-Extract mit Soda bei allmählichem Wasserzusatze verrieben, subcutan (eine Spritze — Rückenhaut). Es tritt keine Wirkung ein.

3. Ein Huhn erhält 1,0 grm. Alcohol-Extract in Pillenform. — Keine Wirkung.

4. Demselben Huhn werden 0,1 grm. Alcohol-Extract mit Soda präparirt, subcutan unter die Rückenhaut injicirt. Dieselben rufen keine Vergiftungssymptome hervor.

5. Dasselbe Huhn erhält nun 0,2 grm. Alcohol-Extract (Sodamischung) subcutan. — Ebenfalls wirkungslos.

6. Ein Huhn erhält 0,3 grm. Alcohol-Extract mit Soda verrieben, subcutan. (3 Spritzen). Auch jetzt tritt keine Wirkung ein.

7. Ein Dompfaff erhält 0,5 grm. Alcohol-Extract in Pillenform, ohne das dieselben irgend welche Symptome hervorrufen.

Aus diesen Versuchen an Vögeln geht hervor, das das Gift per os gegeben gar keinen Einfluss auf diese Thiere auszuüben vermag; es ist vollständig unschädlich. — Ob aber durch das Gift überhaupt keine Wirkung auf Vögel erzielt werden kann, ist, wenn es auch wahrscheinlich, so doch durch obige Versuche nicht ganz sicher bewiesen. Es ist immerhin möglich, das eine große Dosis — etwa 0,5—1,0 grm. subcutan applicirt doch eine toxische Wirkung hervorzubringen im Stande wäre; zu einem solchen Versuch hätte man aber mindestens 5—10 Spritzen zu injiciren — ein Eingriff, der allein genügen würde, das Leben des Thieres wenigstens stark zu gefährden. Aus diesem Grunde unterliefs ich weitere Versuche und begnügte mich mit dem Resultat, das Vögel im Allgemeinen eine gewisse Immunität gegenüber dem Gift besitzen. Ob dieselbe bei subcutaner Anwendung, ebenso wie bei Application per os, eine absolute ist, lasse ich dahingestellt.

II. Versuche an Säugethieren.

1. Eine Katze von 2700 grm. Gewicht erhält 1,0 grm. Alcohol-Extract in flüssiger Form per os. Nach einer Stunde erbricht das Thier die ganze Menge; eine Wirkung ist im Uebrigen nicht zu erkennen.

2. Dieselbe Katze erhält 1,0 grm. Alcohol-Extract in Pillenform per os. Nach 1 $\frac{1}{2}$ St. tritt heftiges Erbrechen ein, wobei die fast noch unveränderten Pillen herausbefördert wurden. Sonst keine Wirkung.

3. Wiederum erhält diese Katze 0,5 grm. Alcohol-Extract in Pillenform. Erbrechen tritt jetzt nicht ein, ebenso wenig aber auch irgend welche toxische Wirkung.

4. Derselben Katze wird nun, um das Erbrechen zu verhindern, nach Eingabe des Giftes der oesophagus unterbunden. Das Thier wird chloroformirt, der oesophagus in der Höhe der ersten Trachealknorpel, links von der Mittellinie, freigelegt, eröffnet, ein Schlauch von der Schnittstelle aus in den Magen eingeführt und vermittelt einer Spritze 1,5 grm. Alcohol-Extract in wässriger Form in den Magen gespritzt. Gleich darauf wird der oesophagus, nachdem der Schlauch entfernt, unterhalb der Eröffnungstelle durch einen starken Faden unterbunden. — Der Chloroformrausch währt etwa $\frac{1}{2}$ Stunde, wobei einige wenige Brechbewegungen vorkommen; dann macht die Katze den Eindruck eines vollkommen gefunden Thieres. Nach 1 $\frac{1}{2}$ St. kommen plötzlich sehr heftige, länger dauernde und sich häufig wiederholende Brechbewegungen vor, die ca. $\frac{1}{2}$ Stunde in Anspruch nehmen. Dabei fließt Speichel in größeren Mengen aus der Wunde und aus dem Maule. Nach 2 $\frac{3}{4}$ Stunden erscheint das Thier schon etwas matt, schreit bei Berührungen und auch sonst zuweilen kläglich auf — im Allgemeinen verhält es sich aber ruhig. $\frac{1}{4}$ St. später ist

die Mattigkeit schon deutlicher ausgesprochen und die Katze macht den Eindruck eines recht kranken Thieres. Nach $3\frac{1}{2}$ St. sieht man einige taumelnde Bewegungen — das Thier kann sich nicht mehr auf den Beinen erhalten, versucht aufzustehen, fällt aber sofort wieder hin. Auch sitzen kann es nicht mehr, ebenso wenig den Kopf aufrecht halten; die einzelnen Gliedmaßen werden aber beim Liegen recht energisch bewegt. — Kurze Zeit darauf treten klonische Krämpfe auf, die aber schnell vorübergehen. Dann liegt das Thier ruhiger, von Zeit zu Zeit sich auf der Seite weiter bewegend und laut schreiend. — Die Temperatur wird jetzt gemessen, sie beträgt 37,8 (bei Beginn des Versuches 38,4). Die Athembewegungen sind beschleunigt und sehr energisch; auch die Pulsfrequenz, diese jedoch nur unbedeutend. Das Thier schreit öfters, versucht bisweilen noch aufzustehen, doch ohne Erfolg. Eine mikroskopische Blutuntersuchung ergibt nichts Besonderes, die Blutkörperchen sind unverändert. — Bald kann das Thier sich überhaupt nicht mehr bewegen, leise Zuckungen in den Extremitäten, zuweilen auch im Rumpfe und in den Ohren treten auf. Bald gehen auch diese vorüber, das Geschrei hört auf und vollkommene Lähmung tritt ein. Die Respiration, welche eine Zeitlang recht energisch und langsamer vor sich ging, wird oberflächlich und aussetzend, die Pulsfrequenz sinkt sehr allmählig. Nach einem, etwa 5 St. dauernden, absoluten Lähmungsstadium tritt der Tod ein; ca. 10—11 Stunden nach der Application des Giftes.

Section: Der Magen ist mit Speisebrei ziemlich angefüllt, Magenwandungen unverändert, Blase leer. — An den verschiedenen Organen ist nichts Abnormes nachzuweisen. Die spectroscopische Blutuntersuchung ergibt nur die beiden Oxyhämoglobinstreifen, also auch keine Veränderung.

5. Ein Kaninchen erhält 0,5 Grm. Alcohol-Extr. in Pillenform per os. Es treten keinerlei Vergiftungssymptome ein, auch nicht einmal vorübergehendes Unwohlsein.

6. Ein Kaninchen von ca. 1600 Grm. Gewicht erhält 1,0 Alcohol-Extr. in Pillenform per os. In den ersten Stunden erscheint das Thier gesund, auch nach 3 Stunden ist, außer einer etwas energischen Respiration nichts wahrzunehmen. Nach $3\frac{1}{2}$ Stunden ist letztere schon deutlicher ausgesprochen; die Nasenflügel werden dabei stark erweitert. $\frac{1}{2}$ Stunde später vermag sich das Thier nicht mehr aufrecht zu erhalten, kann weder stehen noch gehen, macht wohl die verschiedensten Versuche dazu, welche jedoch von keinem Erfolge begleitet sind — es fällt immer wieder hin. Pulsfrequenz 200, Athemfrequenz 120 in der Min. Temperatur 38,0 (bei Beginn des Versuches = 38,3).

Bald darauf treten klonische Krämpfe von kurzer Dauer auf (etwa 10—15 Sec.); dann bleibt das Thier ruhig auf der Seite liegen, nur bei Berührungen macht es gewaltsame Versuche sich aufzurichten, die aber vergeblich sind. Die Athemfrequenz sinkt allmählig auf 52 (nach ca. 6 St.) — der Puls etwas später auf 140 in der Minute. Nach 7 St. erreicht erstere wieder eine Höhe von 100, wird aber immer mehr oberflächlich. Leise Zuckungen der Extremitäten und zuweilen auch des Rumpfes treten ein, die bald in Zittern übergehen, welches jedoch auch nur von kurzer Dauer ist und der vollständigen Lähmung Platz macht. Derselben folgt nach ca. 11 St. (ohne merklichen Uebergang) der Tod. Kurz vorher hatte das Thier noch ein Mal leise aufgeschrien.

Bei der Section konnten keine Veränderungen der Organe nachgewiesen werden. Die Magenwandungen waren unverändert, zeigten keine Injection. Die spectroscopische

Blutuntersuchung zeigte auch hier nur die beiden Oxyhämoglobinstreifen; microscopisch war ebenfalls keine Veränderung nachzuweisen.

7. Ein Kaninchen erhält 1,0 grm. Alcohol-Extr. in Pillenform per os. Nach 12 Stunden finde ich das Thier schon todt. Die Symptome habe ich in diesem Falle nicht beobachtet, da der Versuch am Abend vorgenommen wurde; in der Nacht war das Thier gestorben. Ich führe den Versuch nur der Vollständigkeit wegen an, da ja auch er eine sichere Wirkung des Giftes beweist.

8. Eine Katze von 2560 grm. Gew. erhält 0,1 grm. Alcohol-Extr. mit Soda in wenig Wasser verrieben, subcutan (1 $\frac{1}{2}$ Spritzen). Es tritt keine Wirkung ein.

9. Dieselbe Katze erhält 0,4 grm. Alcohol-Extr. (ebenfalls mit Soda) subcutan (5 Spritzen). Nach ca. 1 $\frac{1}{2}$ Stunden bemerkt man etwas vermehrte Salivation, die coordinirten Bewegungen sind vielleicht etwas alterirt, mit Bestimmtheit läßt sich das nicht constatiren. Die Respiration ist recht energisch. Nach 24 St. ist jedenfalls nichts Abnormes mehr nachzuweisen (schon nach 3 St. zeigte das Thier guten Appetit), nur empfindet das Thier bei Berührungen der Injectionsstellen — die sich etwas erhaben anfühlen — einigen Schmerz. Eiterung tritt aber im weiteren Verlauf nicht ein.

10. Eine Katze erhält 3 Ccm. der Mutterlauge eines frisch bereiteten alcoholischen Extractes aus dem gepulverten Holze per os. Nach 1 St. erbricht das Thier; eine Wirkung tritt im Uebrigen nicht ein.

11. Eine Katze erhält 4 Ccm. der Mutterlauge — gleich darauf Unterbindung des oesophagus. — Außer einigen heftigen Brechbewegungen, die mit starkem Speichelfluss einhergehen — keine Wirkung.

H. Specielle Untersuchungen.

Bevor wir auf diese eingehen, wollen wir versuchen, aus den Allgemeinererscheinungen — die bei den einzelnen Versuchen genauer geschildert sind — uns vorläufig ein Bild über die Wirkungsweise des Giftes an den verschiedenen Thieren, zu machen. Diese weisen uns schon auf gewisse specielle Reactionen hin, was um so werthvoller ist, als mehrere specielle Untersuchungen aus später zu nennenden Gründen sehr erschwert, ja unmöglich gemacht werden.

Am besten läßt sich der Symptomencomplex an Säugthieren beobachten, fangen wir daher mit diesen an.

In den Vordergrund des Vergiftungsbildes treten die Erscheinungen von Seiten des Centralnervensystems. — Unter den ersten Symptomen treten uns forcirte Respirationsbewegungen entgegen. Bei den Kaninchen wurden die Nasenflügel weit aufgerissen (bei jeder Inspiration), der Thorax arbeitet dabei recht energisch. Auf den Beobachter macht es den Eindruck, als ob das Thier einen gewissen Lufthunger verspüre, den es durch intensive Inspirationen stillen wolle. Da nun das Blut, wie aus den vorhergehenden Versuchen hervorgeht, und wie durch die speciellen Untersuchungen vervollständigt und bestätigt wird, keine Veränderung durch das Gift erleidet (der CO_2 gehalt nimmt auch nicht zu), so muß dieses Symptom wol auf Irritation eines im Centralnervensystem liegenden Theiles bezogen werden. Es handelt sich offenbar um Reizung des Respirationcentrums, welche später in Lähmung übergeht, da mehr zum Ende des Vergiftungsbildes die Athmung sehr oberflächlich und oft aussetzend wird. — Dieser Erscheinung begegnen wir fast bei allen Thierversuchen, an Warmblütern sowohl als

an Kaltblütern. Bei den Fröschen und Fischen tritt dieses Symptom besonders deutlich hervor. Ich habe fast bei allen diesen Versuchen die Frequenz der Respirationsbewegungen angegeben, auch ihre Energie bezeichnet; — verfolgt man das genauer, so wird man leicht ein klares Bild über diese Verhältnisse gewinnen können. Als zweites, deutlich ausgesprochenes Symptom zeigt sich zunächst an den Säugethieren die Ungeschicklichkeit bei allen coordinirten Bewegungen. Die Thiere sind beim Gehen sehr unbehülflich und unsicher, setzen die hinteren Extremitäten oft kreuzweise auf, wackeln mit dem Körper hin und her und drohen bald auf die eine, bald auf die andere Seite zu fallen. Bald wird ihnen das Gehen und Stehen überhaupt zur Unmöglichkeit, alle Versuche dazu misslingen, die Thiere bewegen sich nur auf der Seite vorwärts. Der Kopf kann allmählig auch nicht mehr aufrecht erhalten werden und sinkt zu Boden. Trotzdem besitzen die Thiere einen großen Bewegungstrieb, und führen, auch wenn sie liegen, mit Kopf und Extremitäten verschiedene uncoordinirte Bewegungen aus. Erfasst man eine Extremität, so versucht das Thier dieselbe fortzureißen und entwickelt dabei eine recht energische Kraft, welche sich anfangs gar nicht von der eines gefunden Thieres unterscheidet.¹⁾ Die rohe Muskelkraft ist also im Beginn der Vergiftungssymptome noch vollständig erhalten, während eine deutliche Störung in den coordinirten Bewegungen vorliegt. Das geschilderte Symptomenbild hat gewisse Aehnlichkeit mit demjenigen bei der *Tabes dorsalis*; die Sehnenreflexe scheinen auch herabgesetzt zu sein. Dieses Alles spricht dafür, daß es sich

1) Anm.: Dieses dient auch als Beweis für die anfängliche Erhaltung der Sensibilität, die erst später im Lähmungsstadium erlischt.

hier wol um Affection des Rückenmarkes handelt, um eine deutliche Beeinflussung der hier vorhandenen Coordinationscentren. Zuckungen, Krämpfe, traten nur sehr vorübergehend bei einigen Thieren auf, fehlten bei andern vollständig, wie z. B. bei den Fröschen. Ob dieselben vom Gehirn oder Rückenmark ausgingen, wage ich nicht zu entscheiden, glaube aber das letztere. Ein Versuch, den ich zur Entscheidung dieser Frage durch Durchschneidung des Rückenmarkes hätte machen können, hat deshalb keinen Werth, weil die Krämpfe eben nur kurze Zeit dauerten und das Lähmungsstadium zu schnell eintrat, ganz abgesehen davon, daß z. B. eine Katze 2 solcher schwer wiegenden Operationen, wie Unterbindung des oesophagus und Durchtrennung des Rückenmarkes, wohl kaum ausgehalten hätte. Bei Fröschen fehlten die Krämpfe vollständig. — Dafür, daß die Krämpfe vom Rückenmark und nicht vom Gehirn ausgingen, spricht auch der Umstand, daß dieselben in den Gefichts- und Kaumuskeln nicht auftraten. Ich bin also geneigt zunächst nur eine Beeinflussung des Rückenmarkes und der medulla (Respirationscentrum) durch das Gift anzunehmen, dem dann erst, allerdings recht bald, diejenige des Gehirns folgt. — Man könnte ganz gut 2 Stadien im Vergiftungsbilde unterscheiden, dasjenige der Erregung — das allerdings nicht bei allen Thieren deutlich ausgesprochen ist — am sichersten noch bei den Fischen, bei den Fröschen fast garnicht, — dem das Stadium der Lähmung sehr bald folgt, das ungewöhnlich lange währt, bis es endlich den Tod (wahrscheinlich durch vollständige Lähmung der Respiration) herbeiführt. Der Puls bietet im Syntomencomplex keine Veränderungen dar, ebenso die Pupillen, die von normaler Weite sind und bleiben.

Der Sectionsbefund bietet im Allgemeinen wenig Cha-

akteristisches dar. Das Herz wird bald schlaff, bald contractirt vorgefunden. Das Blut darin ist zum größten Theil flüßig. Die Lungen der Säugethiere zeigen keinerlei Veränderungen -- bei den Fröschen war Emphysem in hohem Grade sichtbar; nach Eröffnung der Leibeshöhle wölbten sich die Lungen stark hervor, waren etwa von Haselnußgröße. Die starke Auftreibung des Körpers war zum Theil auf die Volumzunahme der Lungen zurückzuführen. Magen und Darmwandungen waren bei den Warmblütern nicht verändert, weder eine Injection, noch Ecchymosen wurden gefunden. Bei Fröschen fiel ihr glasiges Aussehen, die starke ödematöse Durchfeuchtung und die leichte Zerreißlichkeit vor Allem auf, während jegliche Injection auch hier vermischt wurde. An den Nieren ist nichts Pathologisches zu constatiren gewesen. Auf die Blutuntersuchungen gehe ich noch später ein.

Durch Sichtung der Allgemeinerscheinungen haben wir somit schon mehrere specielle Wirkungen des Giftes kennen gelernt, vor Allem diejenige auf das gefamnte Centralnervensystem und speciell auf den Respirationsapparat. Es erübrigt uns noch die Wirkung auf den Circulationsapparat näher zu studiren.

Wirkung auf die Herzaction.

Schon aus den angeführten Allgemeinerscheinungen geht ziemlich deutlich hervor, daß die Herzaction durch das Gift nicht alterirt wird, (die Pulsfrequenz sank langsam und allmählig bis zum eintretenden Tode); um das noch genauer zu zeigen, führe ich einige Versuche an, die ich mit directer Application einer möglichst concentrirten wäsf-

rigen Lösung auf das Herz einiger lebenden Frösche und Fische angestellt habe. — Nach Eröffnung der Brusthöhle und des Herzbeutels wurden von den Lösungen, in Zwischenräumen von einigen Minuten, je ein Tropfen aufs Herz geträufelt. Da aber mit dem Gift noch verschiedene andere Substanzen, die möglicher Weise auch irgend eine Wirkung auf die Herzcontractionen ausüben konnten, mit in Anwendung kamen — ich erinnere daran, daß mir ja nur ein ungereinigtes Extract, nicht die ifolirte Substanz, zu Gebote stand — so wären diese Versuche, falls sie ein positives Resultat ergeben hätten, weniger hoch anzuschlagen. Weil sie aber negativ ausfallen, so haben sie doch einen gewissen Werth: sie beweisen die Wirkungslosigkeit auf die Herzaction.

1. Einem mittelgroßen Frosch wird das Sternum entfernt und der Herzbeutel eröffnet. In den ersten Minuten ist die Zahl der Herzcontractionen keine constante, was wol auf die Operation zu beziehen ist; bald jedoch geht dieser Zustand vorüber. Ich fange mit einer wässrigen Lösung (*A*) an, lasse dann eine nicht filtrirte folgen, (*B*), welche, mehr zum Ende des Versuches hin, durch eine mit Soda angefertigte Mischung ersetzt wird (*C*)

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
3 ^h 30 m.	50
1 Tropfen der Lösung <i>A</i> aufs Herz geträufelt	
3 ^h 33 m.	49
35 m.	48
37 m.	45

2. Application A.

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
3 ^h 39 m.	43
41 m.	43
43 m.	43

3. Application A.

45 m.	43
47 m.	42
49 m.	40

4. Application A.

51 m.	40
53 m.	38
55 m.	38
57 m.	37

1 Application B.

4 ^h 15 m.	28
17 m.	29
20 m.	27
22 m.	25
24 m.	24

2. Application B.

26 m.	24
28 m.	23
32 m.	23

3. Application B.

35 m.	22
37 m.	21
39 m.	20

1. Application C.

42 m.	20
45 m.	20
48 m.	19

2. Application C.

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
50 m.	19
52 m.	18

Der Versuch wird unterbrochen. 2. Versuch: Dieselbe Anordnung des Versuches wie im vorigen Falle. Beginn $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Operation.

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
5 ^h 20 m.	38

1 Tropfen der Lösung A.

25 m.	38
27 m.	40
29 m.	40

2. Application A.

32 m.	39
34 m.	38
36 m.	38

3. Application A.

39 m.	38
41 m.	37
43 m.	38

1. Application B.

45 m.	38
48 m.	38
50 m.	37

2. Application B.

53 m.	37
55 m.	38
57 m.	38

1. Application C.	
Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
6 ^h 0 m.	38
2 m.	38
4 m.	37

2. Application C.	
8 m.	36

Der Versuch wird unterbrochen.

Wirkung aufs bloßgelegte Herz beim Fische.

Versuch 1. Ein Gründling (*Cyprinus gobicus*) Gew.
6,2 grm.

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
6 ^h 18 m.	48

1 Tropfen der Lösung A.	
20 m.	48
22 m.	70
24 m.	60

2. Application A.	
27 m.	42
29 m.	44
31 m.	42

3. Application A.	
33 m.	58
35 m.	58
37 m.	62

1. Application B.	
40 m.	64 allmählig
42 m.	74 oberflächlich
44 m.	70 werdend

2. Application *B*.

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
6 ^h 46 m.	48
48 m.	44
50 m.	38

1. Application *C*.

52 m.	26
54 m.	24
56 m.	20

2. Application *C*.

7 ^h 58 m.	24
0 m.	16
2 m.	16
4 m.	Stillstand des Herzens.

Versuch 2. Ein Weisfisch. Gew. 4,8 gm.

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
7 ^h 10 m.	60

1. Application der Lösung *A*.

12 m.	62
14 m.	74
16 m.	74

2. Application *A*.

18 m.	80	} Die Contractionen werden weniger ausgiebig.
20 m.	84	
22 m.	80	

3. Application *A*.

24 m.	64
26 m.	18
28 m.	14
30 m.	Stillstand.

Versuch 3 gilt als Controllversuch. Das Herz eines Weisfisches wird bloßgelegt und darauf die Contractionen beobachtet, ohne Anwendung des Giftes.

Zeit.	Anzahl der Pulse in der Minute.
7 ^b 36 m.	30
38 m.	56
40 m.	76
42 m.	80
44 m.	80
46 m.	88
48 m.	60
50 m.	80
52 m.	60
54 m.	60
56 m.	44
58 m.	40
8 ^a 0 m.	40
2 m.	32
4 m.	16
5 m.	Stillstand.

Aus den angeführten Versuchen geht somit deutlich hervor, daß eine directe Application des Giftes auf das bloßgelegte Herz keine Alteration der Contractionen desselben hervorzubringen vermag. Die Pulsbestimmung bei den vergifteten Thieren ergab auch nichts Abnormes, wir können also mit ziemlicher Sicherheit eine Wirkung aufs Herz ausschließen.

Die Wirkung auf den Blutdruck zu bestimmen, unterließ ich. Eine wässrige Lösung des Extractes -- ganz abgesehen von dem Umstande, daß sie die verschiedensten Verunreinigungen enthält -- hat eine viel zu geringe Menge des Giftes.

tes in sich aufgenommen, als das sie eine Alteration des Blutdruckes hätte hervorbringen können. Aus den Versuchsprotocollen ist ja auch ersichtlich, das durch möglichst grose Gaben wäsriger Löfungen nicht einmal vorübergehendes Unwohlsein an den Versuchsthieren beobachtet wird.

Wirkung auf das defibrirte Blut.

Versuch 1. Zu einem halben Ccm. defibrirten Blutes, das mit 10 Ccm. einer 1 % Kochsalzlöfung verdünnt war, füge ich ein Ccm. einer concentrirten wäsrigen Löfung des frischen Alcohol-Extractes hinzu. Es tritt keine Veränderung der Blutkörperchen ein, noch nach 24 St. hat das Blut — unter dem Microscop gesehen — daselbe Aussehen, wie eine zur Controlle aufgestellte gleiche Mischung ohne Zusatz des Giftes.

Versuch 2. In 2 gleich grose und gleich dicke Fläschchen werden 10 Ccm. defibrirtes, im Verhältniß von 1:100 Wasser verdünntes Blut gethan. Der Inhalt des einen Fläschchens wird darauf mit 1 Ccm. concentrirter wäsriger Löfung des frischen Alcoholextractes gemischt. — Beide Fläschchen zeigten sowohl jetzt als auch später keinen Unterschied im spectroscopischen Verhalten; die beiden Oxyhämoglobinstreifen traten in beiden Fällen als einzige Absorptionsstreifen deutlich hervor.

Versuch 3. Flüssiges Blut (von gleicher Quantität) in 2 gleich grose Reagensgläser gebracht — von denen eins vorher 1 Ccm. der wäsrigen Giftlöfung enthielt — gerann in beiden Gefäsen zu gleicher Zeit.

Das «Fischgift» erweist sich somit in seinem Verhalten dem Blut gegenüber als ohne nachweisbare Wirkung. Weder besitzt es die Fähigkeit die Blutkörperchen aufzulösen, noch übt es einen Einfluss auf die Gerinnung des Blutes aus, noch endlich vermag es eine Aenderung im spectroscopischen Verhalten des Blutes herbeizuführen. — Gegenüber dem Circulationsapparat hat sich das Gift somit indifferent gezeigt. Da nun auch — wie die Sectionsprotocolle beweisen — am Magen-Darmtractus der vergifteten Thiere keine Veränderung vorgefunden wird, (es war nicht einmal irgend eine Spur einer Injection zu bemerken gewesen; das Erbrechen, welches nur bei größeren Gaben erfolgte, kann sehr wohl auch centralen Ursprungs sein, da es relativ spät erst eintritt) so bleibt allein eine Wirkung aufs Centralnervensystem noch bestehen, die in jedem Falle deutlich hervortritt. Wir sind somit berechtigt der wirksamen Substanz den Platz eines «Nervengiftes» einzuräumen. Den Namen Fischgift trägt sie dagegen nur mit theilweiser Berechtigung; es handelt sich um eine Substanz, deren Wirkung sich nicht ausschließlich auf Fische beschränkt, sondern auch auf andere Thiere, wenngleich die Fische besonders, mehr als andere Thiere, empfindlich dagegen sind. Auch schon der Umstand, dass gewisse Fischclassen — wie z. B. Karauschen — vollkommene Immunität gegenüber dem Gifte besitzen, widerspricht der Bezeichnung «Fischgift».

Zum Schluss will ich noch einige Versuche an Fischen mit Picrotoxin anführen, das als ein sehr energisch wirkendes Fischgift bekannt ist. Das Vergiftungsbild ist in gewisser Hinsicht dem durch meine Substanz hervorgebrachten ähnlich, doch treten auch mehrere Verschiedenheiten

deutlich hervor, die ich am Schlufs dieser Versuche aufzählen will. — 0,01 grm. Picrotoxin wird in 100 Ccm. Wasser gelöst, mit der Lösung stellte ich nachstehende Versuche an:

1. 50 Ccm. (entsp. 0,005 Picrotoxin) werden mit 1 L. Flw. verdünnt, in eine parallelwandige Schale gegossen und 3 Fische hineingethan: ein kleiner Barsch, ein Weisfisch und eine Karausche. Nach 4 St. verendet der Barsch, nach $6\frac{1}{2}$ St. beginnen die Betäubungserrscheinungen bei dem Weisfisch (diese sowol, wie die vorhergehende Unruhe, beschleunigte Athmung etc. . . . stimmen mit den von mir beim Fischgift beobachteten Symptomen überein). Der Tod bei diesem tritt nach ca. 8—20 St. ein. — Die Karausche zeigt die ersten Vergiftungssymptome erst nach ca. 20 St. und verendet nach 2 Tagen. Alle 3 Thiere hatten im Verlaufe eine hellere Farbe angenommen, die besonders bei der Karausche deutlich hervortrat: sie war hellgelb geworden.

2. 25 Ccm. (entsp.: 0,0025 Picrot.) — 1 L. Flw. 3 Thiere, eine Karausche, ein Weisfisch und ein Barsch. Letzterer verendet nach $5\frac{1}{2}$ Stunden, der Weisfisch nach ca. 24 Stunden, die Karausche erst nach 4 Tagen. Alle 3 Thiere waren merklich heller geworden.

3. 12,5 Ccm. (entspr.: 0,00125 Picrot.) — 1 L. Flw. — 3 Fische. — Es tritt keine Wirkung ein.

4. 6,25 Ccm. (0,0006 Picrotoxin). Ebenfalls keine Wirkung.

5. In die erste Mischung 50 Ccm. (entspr.: 0,005 Picrotoxin) werden 2 Weisfische und 2 Karauschen gethan. Nach Beginn der Betäubungserrscheinungen werden sie herausgenommen und in frisches Wasser gethan, erholen sich jedoch nicht mehr.

Die Resultate, die aus den angeführten Versuchen im Vergleich zum «Fischgift» hervorgehen, sind folgende:

1. Picrotoxin wirkt auf alle, von mir untersuchten Fischklassen.

2. Die Wirkungsenergie bei Picrotoxin ist gegenüber dem «Fischgift» eine schwächere. Bei 0,00125 Picrotoxin-gehalt in einem Liter Flusswasser tritt auf die Versuchsthiere keine Wirkung mehr ein, während bei 0,0005 Fischgiftextract noch Betäubung hervorgerufen werden konnte. Außerdem enthielt ja das Fischgift noch mancherlei unwirksame Verunreinigungen, der Unterschied in der Wirkungsenergie ist somit ein recht bedeutender.

3. Der Lähmungszustand bei Einwirkung des Picrotoxins tritt später ein und dauert nicht so lange, geht früher in den Tod über.

4. Die Respiration, die auch durch Picrotoxin stetig abnimmt, wird sehr bald unregelmäßig und bleibt es größtentheils bis zum eintretenden Tode.

5. Die Fische bekommen in einer Picrotoxinlösung eine hellere Färbung, zum Unterschiede von der von mir untersuchten Substanz, wo die Farbe deutlich dunkler wird.

Die hauptsächlichsten Resultate meiner Arbeit fasse ich in folgenden Sätzen zusammen:

1. Das mit «Fischgift» bezeichnete, von Thomson und mir untersuchte Holz enthält einen Bestandtheil, der aufs Centralnervensystem giftig einwirkt, daher mit vollem Recht als Nervengift bezeichnet werden kann. Die Wirkungsenergie bei den verschiedenen Thierklassen ist eine verschiedene, am stärksten tritt dieselbe bei Fischen zu Tage doch nicht bei allen: es giebt unter diesen gewisse Arten, bei denen jegliche Wirkung vermisst wird, z. B. Karauschen.

2. Bei Fröfchen wird das Gift vom Darmkanal aus (als folches jedenfalls) nicht reforbirt. Man kann die größte Dofis ohne jegliche Schädigung der Thiere per os verabreichen. Subcutan applicirt tritt jedoch deutliche Wirkung ein, auch schon bei kleineren Gaben.

3. Auf Vögel hat das Gift gar keinen Einfluss. Sicher läfst sich das bei Application desselben per os constatiren; doch ist es immerhin möglich, dafs subcutan applicirt vielleicht doch noch eine toxische Wirkung erzielt werden könnte; die Dofis müfste jedenfalls dabei recht hoch gegriffen werden; weshalb man eine energifche Wirkung sicher ausschliessen kann.

4. Säugethiere besitzen keine dem entsprechende Immunität gegenüber dem Fischgift. Eins der Hauptsymptome ist Erbrechen. Durch verhältnißmäfsig grofse Gaben erzielt man eine recht energifche toxische Wirkung auf das Centralnervensystem, die schliesslich den Tod herbeiführt.

5. Der wirkfame Bestandtheil im Holz ist kein Alcaloid und kein Glycosid, aller Wahrscheinlichkeit nach ein Harzkörper, der keinen Stickstoff enthält.

6. Der wirkfame Bestandtheil ist löslich in Wasser, Petroläther, Benzin, Alcohol, Aether und Chloroform.

7. Der wirkfame Bestandtheil ist leicht zerfetzlich, bei jedweder Behandlung, wie Löfen, Erhitzen etc. . . . ja selbst bei längerem Liegen. Am schnelsten tritt die Zerfetzung in wäfsriger Lösung ein, sie wird durch Zusatz von Säuren noch beschleunigt.

8. Die Zerfetzungsproducte haben keine toxische Wirkung.

9. Die Reindarstellung des Giftes, sowie die nähere Bestimmung desselben, wurden bisher durch die leichte Zerfetzlichkeit unmöglich gemacht.



Thesen.

1. Der wirksame Bestandtheil der von mir untersuchten Droge ist ein Harzkörper.
2. Bei der Behandlung der Lues ist die subcutane Anwendung von Sublimat-Injectionen irrationell.
3. Die Allgemeinbehandlung der variola vera muß vor Allem in der Anwendung von Bädern und innerlichen Alkoholgaben, von Beginn der Krankheit an, bestehen.
4. Bei der trachomatösen Conjunctivitis mit nur wenigen aber größeren Follikelbildungen, sollen letztere mechanisch zerstört werden, dann erst sollen die üblichen Medicamente in Anwendung kommen.
5. Refractionsbestimmungen, sei es auch nur zur Feststellung des Grades der Myopie und Hypermetropie, müssen, zur Vermeidung vieler jetzt bestehenden Uebelstände, von jedem Landarzte gehandhabt werden.
6. Cocain als Anästheticum findet in der Privatpraxis noch viel zu wenig Anwendung.
7. Bei der Behandlung der Epilepsie durch Brompräparate ist das Bromkalium durch Bromnatrium und Bromammonium resp. durch eine Mischung aller drei zu ersetzen.