XXVI.

Arbeiten aus dem pharmakologischen Institut der Universität zu Tokio.

Weitere Untersuchungen über das Fugugift.

Von

Prof. Dr. D. Takahashi u. Dr. Y. Inoko.

I.

In unserer früheren Mittheilung haben wir gezeigt, wie deletär das Fugugift auf den Organismus einwirkt, beziehungsweise wie es die einzelnen Organfunctionen beeinflusst. Es bleibt nun die wichtige Frage zu erörtern, ob auch die lebenden Fugufische (Tetrodonten) selbst derart ergriffen werden. Ehe wir hierauf eingehen, sei es uns gestattet, einige literarische Notizen einzuschalten.

Bekanntlich hatte Lenz¹⁾ vor einem halben Jahrhundert den Nachweis geführt, dass das Gift von *Vipera torva* (Kreuzotter) auf Eidechsen, Salamander und Frösche tödtlich wirkt, aber nicht auf die Kreuzotter selbst. Guyon²⁾ stellte die Wirkung des Schlangengiftes auf dieselbe Species überhaupt in Abrede, gestützt auf eigene und fremde Experimente mit *Vipera Redii*, *V. torva*, *Trigonocephalus lanceolatus*, *T. piscivorus*, *Vipera arietans*, *V. cerastes*, *V. mauritana*, die stets negative Resultate lieferten. Neuere Untersuchungen von Brunton und Fayrer³⁾ bestätigten dies. So ist es festgestellt, dass die giftigen Schlangen sich selbst nie durch Bisse vergiften, ungiftige dagegen ebenso sicher wie andere Thiere.

Eine ganz ähnliche Erscheinung findet man beim Krötengift. Vulpian⁴⁾ zeigte zuerst, dass es auf Kröten selbst ohne Wirkung

1) Husemann, Handbuch der Toxikologie. 1862. S. 306.

2) Rev. med. 15. juillet 1861, cit. nach Husemann, l. c.

3) Brunton and Fayrer, Proceedings of the royal Society. London. No. 145. 1873, cit. nach Boehm, Dieses Archiv. III. Bd. S. 303. — Fayrer, Med. Times and Gaz. Febr. 2. 1884, cit. nach Kobert, Schmidt's Jahrb. 204. Bd. 1884. S. 114.

4) Memoires de la Société de Biologie, 1856, cit. nach Zalesky, Medic.-chemische Untersuchungen von Hoppe-Seyler. S. 104.

ist. In pharmakologischer Beziehung gehört das Krötengift zur Digitalingruppe und darum kann man Kröten jedes beliebige Gift dieser Gruppe in einer sogar 10 mal grösseren Dose, als es nöthig ist, um einen gleich grossen Frösch zu vergiften, einspritzen, ohne dass irgend welche Wirkung zum Vorschein kommt.¹⁾ Kobert (l. c.) fand aber, dass dies nur für fertig entwickelte Kröten der Fall ist; die Krötenlarven, welche ja noch kein Gift absondern, sind gegen die Wirkung desselben nicht immun: sie sterben daher nach derselben Dose, welche nöthig ist, um eine gleich grosse Froschlarve zu tödten.

Das Gift der Tritonen verhält sich analog. Die Versuche von Vulpian²⁾ haben uns kennen gelehrt, dass der Giftstoff für Tritonen selbst unschädlich ist, wenn er auch ins Blut dieser Thiere gebracht wird.

Auch das giftige Secret des Erdsalamanders besitzt für letzteren nicht die Eigenschaft eines Giftes. Wir verdanken Vulpian³⁾ die erste Mittheilung darüber.

Weiter hat Vulpian⁴⁾ gezeigt, dass das Gift von Kröten die Tritonen tödtet und umgekehrt; ferner, dass das Secret der Erdsalamander giftig ist für Kröten und Tritonen.

Es ist somit in teleologischer Beziehung eine sehr interessante Thatsache, dass das Gift auf den Träger keine Wirkung ausübt.

Unsere Untersuchungen haben wir Anfang Juli dieses Jahres in der zoologischen Versuchsstation zu Misaki und zwar im Meer selbst ausgeführt. Die frisch gefangenen Fugufische, welche zu unseren Experimenten dienten, waren vorzugsweise *Tetrodon vermicularis* Sieb. (japanisch Shōsaifugu), einige Exemplare von *T. stictonotus* Sieb. (Gomafugu) und *T. pardalis* Sieb. (Akamefugu) und eine geringe Anzahl anderer Species. Unter diesen erwies sich die zweitgenannte Art (*T. stictonotus*) als sicher ungiftig, wovon wir uns durch besondere Versuche im hiesigen Laboratorium überzeugten. Zu bemerken ist, dass die Laichzeit⁵⁾ schon vorüber war, so dass die Genitalorgane auffallend atrophisch gefunden wurden. Diese Atrophie ist aber keineswegs das Zeichen dafür, dass die giftige Wirkung auf das Minimum reducirt ist, sondern die Giftigkeit, wenn auch vermindert, bleibt noch ziemlich gross.⁶⁾ Unsere Versuche ergaben nun folgende Resultate:

1) Kobert, Schmidt's Jahrb. 204. Bd. S. 114.

2) l. c. S. 102. 3) l. c. S. 103. 4) l. c. S. 104.

5) Die Laichzeit fällt im Allgemeinen auf März, April und Mai.

6) Wir haben dies bereits im Jahre 1887 constatirt.

1. An giftigen Tetrodonspecies (vor Allem *T. vermicularis* und *T. pardalis*) brachte eine selbst 6 mal grössere Dose, als nöthig war, um ein mittelgrosses Kaninchen zu tödten, keinerlei Wirkung hervor.¹⁾

2. Auch ungiftige Arten (hauptsächlich *T. stictonotus*) blieben verschont. Sie vertrugen ebenfalls dieselbe hohe Dose, wie die giftigen.

3. Männchen und Weibchen verhielten sich genau gleich.

Vergleichende Untersuchungen mit anderen Seefischen, wie *Cheilodactylus zonatus* Sieb., *Caranx murrodsi* Sieb. u. s. w., und mit Flussfischen, wie *Cyprinus haematopterus* Sieb., *Cobitis rubripinnis* Sieb., *Anguilla japonica* Sieb. u. s. w. ergaben, dass dieselben gegen das Fugugift sehr empfindlich waren und durch eine sehr geringe subcutane Gabe zu Grunde gingen.²⁾

Da, wie gesagt, unsere Tetrodonten ihre Laichzeit bereits hinter sich hatten und dennoch das Gift tolerirten, so ist a priori anzunehmen, dass auch in der Laichzeit, also in der Periode der höchsten Giftigkeit, dasselbe gelten muss. Somit glauben wir folgenden sehr bemerkenswerthen Satz aussprechen zu können:

Das Fugugift ist an allen Tetrodonarten, seien sie giftig oder nicht, unwirksam.

II.

Gehen wir über zur Mittheilung einiger chemischen Daten über das Fugugift. Die Vorversuche zeigten, dass es nur durch Thierexperimente³⁾ möglich war, den Giftstoff durch alle chemischen Manipulationen hindurch zu verfolgen, ihn bei den Prüfungen auf seine Lösungs- und Fällungsmittel mit Sicherheit nachzuweisen.

Schon die toxikologischen Erfahrungen am Menschen haben zur Gentige dargethan, dass das wirksame Princip sehr leicht in Wasser löslich ist. Auch ist von uns darauf hingewiesen worden, dass in Alkohol, zumal in wässrigen ein nicht unbeträchtlicher Theil des Giftes übergeht. Wir versuchten nun, ob dasselbe durch Aether extrahirbar sei. Zu diesem Zwecke zerstampften wir frische Ovarien⁴⁾

1) *T. vermicularis* wog im Mittel 370 g, *T. pardalis* ca. 400 g.

2) Die Symptome waren hauptsächlich die der Erstickung. Auch die Herzthätigkeit überdauerte den Athemstillstand auffallend lange.

3) Wir benutzten hauptsächlich Kaninchen, die dazu am geeignetsten waren, daneben Frösche, Tauben und Hühner. Es sei erwähnt, dass Vögel gegen das Fugugift sehr empfindlich sind, ebenso Schlangen. Die Symptome stimmen mit den am Säugethier und Frosch beobachteten überein (vgl. unsere frühere Mittheilung).

4) Ovarien frisch getödteter Tetrodonten, die im lebenden Zustande ins

von *Tetrodon vermicularis* und schüttelten wiederholt mit Aether aus. Diese Auszüge hinterliessen nach Abdestilliren von Aether ein gelbes Oel von saurer Reaction und eigenthümlichem Fischgeruch. Beim Stehen an der Luft schied sich eine weisse krystallinische Masse aus, bestehend aus Nadeln, die unter dem Siedepunkte des Wassers schmolzen; es waren allem Anschein nach Fettsäurekrystalle. Um zu prüfen, ob das Aetherextract giftig wirke, wurde dies zwei Tauben in die Brustmuskeln eingespritzt. Beide blieben ganz gesund. Das Gift geht demnach nicht in den Aether über.

Die mit Aether erschöpften Ovarien wurden dann einige Male mit absolutem Alkohol ausgeschüttelt und jedesmal nach Verjagen des Alkohols an Thieren geprüft. Es gingen allerdings Tauben unter Erstickung zu Grunde, aber nicht Kaninchen, an welchen überhaupt keine Wirkung zu beobachten war. Das giftige Princip ist also in absolutem Alkohol sehr schwer löslich.

Der Rest der Eierstöcke wurde nun in zwei Portionen getheilt, die eine mit reinem destillirten Wasser, die andere mit schwach salzsäurehaltigem Wasser versetzt, oftmals umgerührt, bei Zimmertemperatur stehen gelassen und jeder Auszug an Thieren versucht. Die Giftigkeit erwies sich als gleich gross. Es folgt daraus, dass destillirtes Wasser ebenso gut das Gift in Lösung bringt, wie salzsäurehaltiges.

Wir fällten sodann die wässrigen Auszüge mit Bleizucker aus, entbleiten das Filtrat durch Schwefelwasserstoff und fanden die Lösung stark giftig. Zusatz von Bleiessig zu derselben erzeugte aufs Neue reichliche Fällung; die vom Bleiniederschlag abfiltrirte Flüssigkeit, durch Schwefelwasserstoff abermals entbleit, zeigte sich ebenso giftig, wie vorher.

Die Bleiniederschläge wurden mit Wasser völlig ausgewaschen und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat war physiologisch wirkungslos.

Der wirksame Bestandtheil lässt sich folglich weder durch Bleizucker, noch durch Bleiessig ausfällen.

Die durch Bleiessig ausgefällte wässrige Lösung gab Fällungen mit verschiedenen Alkaloidreagentien, wie Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, Platinchlorid, Quecksilberchlorid, Phosphorwolframsäure. Nun fragte es sich, ob das Gift durch dieselben niedergeschlagen werden könne. Zahlreiche Versuche haben nun

Laboratorium gebracht wurden, wirkten auf Thiere tödtlich unter allen charakteristischen Erscheinungen der Fuguvergiftung.

herausgestellt, dass dies in der That nicht der Fall ist. Es wirkte also das Filtrat nach Kaliumquecksilberjodidfällung ebenso typisch, wie nach Phosphorwolframsäure-, Sublimat- oder Platinehloridfällung. Beispielsweise sei hier eine diesbezügliche Versuchsreihe angegeben: Die mit Bleiessig gereinigte Lösung tödtete das Kaninchen im Durchschnitt von 5 Versuchen zu 0,0694 g der organischen Substanz ¹⁾ pro 1 Kilo Körpergewicht binnen 1½ Stunden. Nach der Fällung mit Kaliumquecksilberjodid, resp. Phosphorwolframsäure betrug die tödtliche Dose pro 1 Kilo 0,0583—0,087 g der organischen Substanz. Was da gefällt war, erwies sich als Cholin.

Nun galt es, aus der mit Alkaloidreagentien ausgefällten, resp. gereinigten Flüssigkeit das giftige Princip zu isoliren, was mit den grössten Schwierigkeiten verbunden war. Aether, Chloroform, Petroleumäther, sowie Amylalkohol nahmen weder aus saurer, noch aus alkalischer Lösung das Gift auf. Nach vielen vergeblichen Bemühungen fanden wir im absoluten Alkohol ein Mittel zur weiteren Reinigung. Die Flüssigkeit wurde nämlich im Vacuum über Schwefelsäure zur Trockne abgedampft und mit absolutem Alkohol mehrmals ausgewaschen. Der darin unlösliche Antheil, mit anorganischen Bestandtheilen vermengt, die sich freilich auf ein Minimum reduciren liessen, war eine gelblich gefärbte, amorphe Masse und zeigte sich stark giftig.

So weit sind wir gekommen. Unsere Bemühungen, das chemisch reine Gift darzustellen, sind leider noch nicht mit Erfolg gekrönt. Fortgesetzte Untersuchungen mit grösserem Versuchsmaterial sind im Gange.

Nach den bisherigen Erfahrungen werden wir folgenden Weg zur Darstellung des Giftes einschlagen: Frische Eierstöcke sind zuerst mit Aether, dann mit absolutem Alkohol zu erschöpfen, mit reinem Wasser bei Zimmertemperatur auszuziehen, mit Bleiessig auszufällen, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff zu entbleien, mit Phosphorwolframsäure, Kaliumquecksilberjodid oder Sublimat zu fällen und das Filtrat weiter zu verarbeiten.

Von den sonstigen Eigenschaften des Fugugiftes ist hervorzuheben, dass es sehr leicht durch thierische Membran diffundirt und erst durch langdauerndes Kochen auf dem Wasserbade, besonders in saurer oder alkalischer Lösung, abgeschwächt und schliesslich

1) Die Lösung wurde bis zur Trockne abgedampft, bei 100—110° getrocknet und vom Rückstande das Aschengewicht abgezogen.

zerstört werden kann. Bei der chemischen Untersuchung suchten wir daher Hitze möglichst zu vermeiden.

Recapituliren wir die gewonnenen Resultate:

1. Das Fugugift ist im lebenden Fisch enthalten, also kein Fäulnissproduct.

2. Es ist leicht löslich in Wasser, theilweise in wässrigem Alkohol, sehr schwer in absolutem Alkohol, gar nicht in Aether, Chloroform, Petroleumäther und Amylalkohol.

3. Es ist nicht durch Bleiessig fällbar, ebensowenig durch Alkaloidreagentien.

4. Es ist diffusionsfähig und wird durch kurz dauern- des Kochen nicht zerstört.

Aus diesen Ergebnissen schliessen wir, dass das Fugugift weder ein ferment- oder eiweissartiger Körper, noch eine organische Base ist. Seine chemische Natur wird erst durch das weitere Studium aufgeklärt werden.

Tokio, im October 1889.