XVI.

Aus dem pharmakologischen Institut der K. tierärztlichen Hochschule
zu München.

Ueber Sapotoxin und Sapogenin von *Agrostemma Githago*.

Von

J. Brandl.

Im Jahre 1891 hat Kruskal¹⁾ unter Kobert's Leitung eingehende Untersuchungen über das Sapotoxin von *Agrostemma Githago* angestellt. Kruskal gewann nach eigener Methode aus den feingepulverten Kornradesamen ein Sapotoxin in Form eines gelblich-weißen, amorphen, in Wasser leicht, in starkem Alkohol schwer löslichen Pulvers.

Durch Behandlung mit Salzsäure im zugeschmolzenen Glasrohr bei 140—150° ließ sich dieses Sapotoxin in Zucker und einen aus alkoholischer Lösung bei langsamer Verdunstung „kristallinisch“ sich ausscheidenden Körper, das Kornradesapogenin, spalten.

Weiterhin hat dann Kruskal die giftigen Eigenschaften des Ag.-Sapotoxins in der eingehendsten Weise experimentell klar gestellt.

Karl Sängner²⁾ unterstellte im vorigen Jahre unter Hilgers Leitung die Kornadesamen einer wiederholten chemischen Untersuchung und erhielt nach seiner Methode ein Sapotoxin, welches ein blendend weißes, stark hygroskopisches Pulver darstellte. Die Spaltung dieses Sapotoxins führte Sängner in der Weise aus, daß er die wässerige Sapotoxinlösung mit verdünnter Schwefelsäure am Rückflußkühler kochte. Das erhaltene Sapogenin schied sich aus einer alkoholischen Lösung im luftverdünnten Raume in weißen,

1) Arbeiten d. pharmakolog. Institutes zu Dorpat. 1891. Bd. VI. S. 89.

2) Karl Sängner, Beitrag zur chem. Charakteristik der Samen der Kornrade im Hinblick auf die Bedeutung der Kornrade als Bestandteil der Mehlsorten des Handels. Inaug.-Diss. München 1904.

drusenförmigen Kristallen ab. Dem von Sängler erhaltenen Ag-Sapotoxin sollen giftige Eigenschaften nicht zukommen.

Da mir seit mehreren Jahren größere Mengen von Kornrade zur Verfügung standen, wollte ich die Gelegenheit benützen, das Ag-Sapotoxin selbst darzustellen und besonders seinem Spaltungsprodukt, dem Ag-Sapogenin, in chemischer wie pharmakologischer Hinsicht meine Aufmerksamkeit zu schenken.

Chemischer Teil.

(Gemeinsam mit Herrn Dr. E. Mayr.)

Extraktion der Samen von *Agrostemma Githago*.

Das grobe Pulver der getrockneten Kornradesamen wurde in Portionen von 2500 g in zwei eigens konstruierten weiten Zylindern mit Ablaufvorrichtung der Extraktion bei gewöhnlicher Temperatur unterworfen. Zur Entölung der Samen wurde das Pulver zunächst einige Tage hindurch mit Äther ausgezogen, bis letzterer beim Abfließen fast keine Gelbfärbung mehr zeigte. Sodann wurden die Zylinder mit Alkohol (70 Vol. Prozent) beschickt, und der Abfließhahn so lange in Abtropfstellung geöffnet gehalten, bis der Äther durch den nachfließenden Alkohol verdrängt war, und die beginnende Alkohol-extraktion sich durch plötzliche trübe Gelbfärbung bemerkbar machte. Mit ca. 5 l Alkohol konnte das Pulver in 2 — 3 Tagen erschöpft werden. Der alkoholische Auszug zeigte eine gelblichgrüne, am Licht mehr bräunlich werdende Färbung und wurde nach dem Filtrieren auf dem Wasserbade zu einem in der Wärme noch dickflüssigen Rückstand eingedampft. Ist das im Radenmehl enthaltene Fett bei der Ätherextraktion nicht vollkommen entfernt worden, so zeigt sich beim Eindampfen des alkoholischen Auszuges auf der Oberfläche eine grünlich-schwarze, fette, häutige Abscheidung, die dann am besten mit einem Löffel weggenommen wird.

Der Rückstand wurde dann noch warm zuerst mit wenig, dann mit mehr absolutem Alkohol angerührt. Anfangs tritt dabei meist Lösung ein, bei weiterer Zugabe von Alkohol und zunehmender Abkühlung entsteht aber eine bald fest und pulverig werdende Abscheidung von Sapotoxin, während die darüber stehende alkoholische Flüssigkeit eine tief dunkelgrüne Färbung annimmt und wesentliche Menge von Sapotoxin nicht mehr enthält.

Die alkoholische Flüssigkeit wird abgegossen, das Sapotoxin nochmals mit absolutem Alkohol in einer Reibschale angerührt, nun-

mehr in Pulverform auf einer Nutsche abgesaugt und mit absolutem Alkohol nachgewaschen. Wir haben es dann mit einer Mischung von gleichen Teilen absolutem Alkohol und Äther nochmals in einer Reibschale behandelt, wieder abgesaugt, mit Alkohol und Äther und zuletzt mit reinem Äther nachgewaschen und auf diese Weise ein Sapotoxin erhalten, das rasch zu einem Pulver von weißlichgelber Farbe trocknete und keine hygroskopischen Eigenschaften mehr hatte.

Die Ausbeute aus den 2500 g Radenmehl betrug 123 — 153 g = 4,9—6,1 Proz. Wir nennen das Produkt Roh-Sapotoxin, weil es mit Bleiacetat meist noch eine Fällung gab und bei der Spaltung mit Säuren weniger Sapogenin lieferte als ganz reines Sapotoxin, von dem später noch die Rede sein wird.

Der ätherische Auszug der Kornradesamen (aus 2500 g) hinterließ nach dem Verdampfen 138 g = 5,52 Proz. öligen Rückstand. Dieser soll später einer genaueren Untersuchung noch unterzogen werden.

Um festzustellen, wie viel Fett und Sapotoxin sich quantitativ nach unserer Methode mit Äther und dann mit 70prozentigem Alkohol aus den Radesamen ausziehen lassen, haben wir einen diesbezüglichen Versuch gemacht.

Hierbei wurden 200 g Mehl in 6 Portionen im Soxhlet'schen Apparate mit Äther auf dem Wasserbade extrahiert, dann mit 70prozentigem Alkohol bei gewöhnlicher Temperatur 7 Tage lang behandelt, und weiter noch mit 1½ l 70prozentigem Alkohol im Kolben 8 Tage lang maceriert, letzteres, weil das Mehl in den Soxhlet-Hülsen sich zu sehr zusammensetzte. Der alkoholische Auszug wurde nach dem Eindampfen auf ein geringes Volumen nochmals ausgeäthert und diese Ätherextraktion mit der ersten vereinigt.

So ergab sich aus den Ätherlösungen nach dem Abdampfen und vollkommenen Trocknen ein Fettgehalt der Samen von 6,44 Proz., aus den alkoholischen Auszügen ein Gehalt an Roh-Sapotoxin von 7,7 Proz. Dieses war aber von dunklerer Farbe und enthielt mehr Nebenprodukte als das zuerst beschriebene Roh-Sapotoxin.

	Saponin	Fett
Lehmann und Mori ¹⁾ fanden	6,56 Proz.	7,09 Proz.
Kruskal ²⁾	6,17	—
Sänger ³⁾	—	8

1) Archiv f. Hygiene. Bd. 9. 259.

2) Arbeiten des Pharmakologischen Institutes zu Dorpat. VI. 114.

3) Dissertation. München. 1904. pag. 40.

Bei der Beschreibung der Darstellung von Roh-Sapotoxin wurde früher erwähnt, daß der alkoholische Auszug der Samen nach dem Eindampfen zunächst mit absolutem Alkohol gewaschen wurde, wodurch schließlich Roh-Sapotoxin in gepulverter Form resultierte. Dieser „Waschalkohol“ hinterließ nach dem Eindampfen einen Rückstand, der beim Trocknen im Vakuum sich stark aufblähte und nach 1—2 Tagen zu einem grünlichgelben, hygroskopischen, aromatisch riechenden Pulver verreiben ließ, — es betrug ca. 2 Proz. des angewandten Radenmehls. Sapotoxin enthielt es nicht, was sich aus einem Spaltungsversuch und seiner Ungiftigkeit ergab.

Dagegen liessen sich darin geringe Mengen organischer Salze und ziemlich viel fettige Substanz nachweisen.

Darstellung von reinem Sapotoxin.

Zu den Spaltungen von *Agrostemma*-Sapotoxin, bei denen bekanntlich Sapogenin und Zucker entstehen, wurde fast durchweg das Roh-Sapotoxin verwendet, weil das dabei entstehende Roh-Sapogenin sich ebenso gut weiterverarbeiten ließ als solches, das aus ganz reinem Sapotoxin entstand. Überdies war die Material- und Zeitersparnis dadurch eine beträchtliche.

Roh-Sapotoxin mit absolutem Alkohol öfters auszukochen und aus der alkoholischen Lösung das Sapotoxin in der Kälte ausfallen zu lassen, halten wir für wenig zweckmäßig, weil man einerseits große Mengen von absolutem Alkohol wegen der Schwerlöslichkeit des Sapotoxins nötig hat, andererseits der in Alkohol unlösliche Rückstand immer noch viel Sapotoxin enthält, und das aus dem absoluten Alkohol ausfallende Sapotoxin trotz seiner fast weißen Farbe doch nicht den Anspruch vollkommener Reinheit machen kann. Wir fanden z. B. bei einem solchen Sapotoxin noch einen Aschenrückstand von 2,98 Proz.

Wendet man zur Reinigung des Roh-Sapotoxins etwas verdünnten Alkohol z. B. von 90—95 Vol. Proz. an, so erhält man eine größere Ausbeute an Sapotoxin als beim absoluten Alkohol, dafür ist es aber auch weniger rein.

War ganz reines Sapotoxin erforderlich, so griffen wir daher zu dem bekannten Reinigungsverfahren¹⁾ mit Bleiacetat und Bleiessig.

So wurden z. B. 86 g Roh-Sapotoxin in heißem Wasser gelöst mit überschüssiger Bleiacetatlösung versetzt und über Nacht hingestellt,

¹⁾ Kobert, Archiv f. exp. Path. u. Pharmakologie 23, 240.

da sich der gebildete graue Bleiniederschlag in heißem Wasser löst. Das Filtrat hiervon wurde mit Bleiessig im Überschuß ausgefällt. Um den nun gelben Niederschlag leichter filtrieren zu können, wurde die Fällung zuerst auf dem Wasserbade angewärmt und nach dem Abkühlen zu Filter gebracht. Nach gründlichem Waschen mit Wasser wurde sodann der Bleiessigniederschlag mit Wasser angeschlämmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Zur besseren Abscheidung des Bleisulfids wurde nach der Ausfällung desselben ziemlich viel Alkohol zugegeben. Das Filtrat vom Bleisulfid wurde zunächst durch Durchblasen von Luft vom Schwefelwasserstoff befreit und dann eingedampft. Der Trockenrückstand war von braungrüner in gepulvertem Zustande von schmutziggelber Farbe und betrug etwa die Hälfte des angewandten Roh-Sapotoxins.

Nunmehr griffen wir zu dem Reinigungsverfahren mit absolutem Alkohol. Das Sapotoxin wurde wiederholt mit heißem absoluten Alkohol extrahiert und zuletzt noch eine Stunde mit Alkohol unter Rückfluß ausgekocht.

Was aus den alkoholischen Auszügen in der Kälte ausfiel, war unser reines Sapotoxin, es betrug ca. 36 Proz. des aus seiner Bleiverbindung nach Zersetzung mit Schwefelwasserstoff verbliebenen Rückstandes oder ca. 18 Proz. des angewandten Roh-Sapotoxins. Der in absolutem Alkohol nicht in Lösung gegangene Rückstand betrug ca. 21 Proz. resp. 10,5 Proz. und erwies sich als ein hochprozentiges Sapotoxin. Die Mutterlauge des reinen Sapotoxins hinterließ nach dem Verdampfen einen Trockenrückstand von ca. 40 Proz. resp. 20 Proz. Dieser ist für uns von besonderem Interesse, weil er eine größere Löslichkeit in absolutem Alkohol zeigt als reines Sapotoxin und deshalb eine neue Saponinsubstanz enthalten könnte. Diesbezügliche Untersuchungen sind noch im Gange.

Das reine Sapotoxin¹⁾ war hellgelb in Wasser löslich, gab mit Bleiacetat keine Trübung, mit Bleiessig eine weißgrünliche, mit Barytwasser eine gelbliche Fällung. Es wurde beim Reiben elektrisch, seine Farbe war ein braunstichiges stumpfes Gelb. Konzentrierte Schwefelsäure löst das Sapotoxin mit gelber Farbe, die allmählich purpurrot wird und im Spektrum bei der E-Linie ein Absorptionsband zeigt. Salpetersäure löst es mit gelbroter Farbe. Ammoniak färbt Sapotoxinlösung gelb, Eisenchlorid braunrot. Ammoniakalische Silberlösung wird beim Kochen durch Sapotoxin reduziert, Kalium-

1) Siehe auch Säger, Dissertation. München. 1904. p. 14 und Kruskal, Arbeiten des Pharmakol. Institutes zu Dorpat. VI. 108.

permanganat in alkalischer kalter Lösung sofort entfärbt; Fehlingsche Lösung zeigt keine Reduktionsercheinung. Beim Verbrennen auf dem Platinblech blähte Sapotoxin sich stark auf, entwickelte ein rußig brennendes Gas und hinterließ so gut wie keinen Rückstand. In 2proz. Lösung drehte es im Zweidezimeterrohr das polarisierte Licht $0,22^\circ$ nach rechts.

Zur Analyse wurde es zwei Stunden bei 110° getrocknet und über Nacht im Vakuum aufbewahrt. Beim Abwägen zur Analyse ist Vorsicht am Platze, weil das getrocknete reine Sapotoxin aus der Luft sehr schnell wägbare Mengen von Feuchtigkeit aufnimmt.

Aschenbestimmung.

0,5444 g Substanz hinterließen nach dem Glühen in der Platinschale 0,0009 g Rückstand, entsprechend 0,16 Prozent.

Elementaranalyse.

0,2323 g Substanz gaben 0,4619 g CO_2 und 0,1515 g H_2O entsprechend:

C	54,23	Prozent
H	7,23	=
O	38,54	=

Atomverhältnis: $\text{C}_{18,75} \text{H}_3 \text{O}_1$.

Zum Vergleich seien die von verschiedenen Autoren bisher veröffentlichten Elementaranalysen von *Agrostemma*-Sapotoxin erwähnt:

	Natanson ¹⁾	Kruskal ¹⁾	Crawford ¹⁾	Christophsohn ¹⁾	Sänger ²⁾	Mayr
C	49,85	49,98	50,72	54,45	51,82	54,23
H	7,40	7,02	7,44	8,36	7,30	7,23
O	43,75	43,00	42,84	37,19	40,88	38,54

Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult.

0,23505 g Substanz gaben in 16,3396 g Wasser eine Gefrierpunktserniedrigung von $0,0147^\circ$, entsprechend einem Molekulargewicht von 1810.

Eine Molekulargewichtsbestimmung des *Agrostemma*-Sapotoxins durch andere Autoren liegt nicht vor. Dagegen hat v. Schulz ³⁾

1) Arbeiten des Pharm. Institutes zu Dorpat. VI. 1891. p. 110.

2) Dissertation. München. 1904.

3) Arbeiten des pharmakol. Institutes zu Dorpat. Bd. 14, S. 24 u. 85.

bei anderen Sapotoxinen auch hohe Molekulargewichte gefunden: Sarsasaponin 5500, Smilacin 2185, Saporubrin 1680, Quillajasapotoxin 1600.

Spaltung des *Agrostemma*-Sapotoxins.

Die Spaltungen von *Agrostemma*-Sapotoxin in Sapogenin und Zucker wurden, wie schon erwähnt, meist mit Roh-Sapotoxin ausgeführt. Als Säure wurde stets 4prozent. Schwefelsäure verwendet, wie sie auch Hoffmann¹⁾ bei der Spaltung von Quillajasäure gebrauchte. Auch haben wir das von ihm angegebene gesättigte Kochsalzbad akzeptiert.

Es wurden immer 15 g Sapotoxin mit 200 cem 4proz. Schwefelsäure ca. drei Stunden im Kochsalzbad erhitzt, wobei stets vollkommene Spaltung erzielt wurde. Das anfangs auftretende lästige Schäumen der Flüssigkeit konnten wir dadurch fast ganz verhindern, daß das Sapotoxin zunächst in 100 cem Wasser gelöst und stark angewärmt mit 100 cem 8proz. Schwefelsäure versetzt wurde. Der Kolben wurde dann sofort in das vorgewärmte Kochsalzbad gesetzt.

Nach erfolgter Spaltung wurde der abgekühlte Kolbeninhalt auf ein Gewebefilter gebracht, und der äußerst voluminöse braun bis schwarz gefärbte Niederschlag so lange mit Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat auf Kongopapier nicht mehr reagierte. Sodann wurde das Sapogenin, da es hartnäckig Wasser zurückhielt, mehrmals auf Ton gestrichen und zuletzt bei mäßiger Wärme getrocknet. Das zuckerhaltige Filtrat war von hellbrauner bis dunkelschwarzer Farbe je nach der Reinheit des angewandten Sapotoxins.

Das rohe gepulverte Sapogenin war meist braungrau gefärbt und bildete sich aus Roh-Sapotoxin zu 19—21,5 Proz., aus Sapotoxin, das aus Alkohol von 90 Vol. Proz. umgelöst war, zu 25,6—25,8 Proz., aus Sapotoxin, das aus der Bleiverbindung gewonnen war und beim nachherigen Auskochen mit absolutem Alkohol als unlöslicher Rückstand blieb, zu 33,1 Proz., aus ganz reinem Sapotoxin zu 37,37 Proz.

In der Literatur²⁾ ist wohl die Rede, daß *Agrostemma*-Sapogenin kristallisiert erhalten wurde, doch scheint die Menge desselben recht spärlich gewesen zu sein. Die Mitteilungen über prozentuale Zusammensetzung und physikalisches Verhalten sind auch recht ver-

1) Berichte 36, 2727.

2) Kruskal, Arbeiten des pharmakol. Institutes zu Dorpat. VI. 113. — Sängner, Dissertation. München. p. 24.

schiedener Art, sodaß es unser Bestreben war, das *Agrostemma-Sapogenin* in größeren Mengen kristallisiert zu bekommen, um es genauer definieren zu können.

Nach vielen vergeblichen Versuchen führte schließlich die Beobachtung zum Ziele, daß Essigäther das rohe Sapogenin nur zum größten Teile löst, ein zweites schwarzbraunes Spaltungsprodukt saurer Natur aber ganz und gar ungelöst läßt.

So wurde denn das Roh-Sapogenin in gepulvertem Zustande auf dem Wasserbade mit viel Essigäther extrahiert, die gelbe Lösung vom schwärzlichen Rückstand heiß abgesaugt und abdestilliert. Das zurückbleibende Sapogenin hält Essigäther zurück und ist anfangs gallertartig voluminös, wird aber bald pulverig und hat gelbliche Farbe. Es läßt sich aus dem 5—6 fachen Gewicht absoluten Alkohols leicht kristallisieren und stellt nach einmaliger Kristallisation schon ein fast weißes Produkt dar. Bemerkenswert ist es, daß das aus Essigäther zurückbleibende unkristallisierte Sapogenin sich sehr leicht in absolutem Alkohol löst, wenn man es nach und nach in Alkohol einträgt, nicht aber umgekehrt verfährt. In letzterem Falle ist bedeutend mehr Alkohol zur Lösung erforderlich.

Kristallisiert man Sapogenin zum zweitenmale, um es vollkommen weiß zu erhalten, so nimmt man besser wasserhaltigen Alkohol, da es in reinem Zustande aus absolutem Alkohol schwerer ausfällt.

Sapogenin kristallisiert in meist mikroskopisch feinen Nadeln, die oft büschelförmig angeordnet sind und nach dem Absaugen und Trocknen ihre Kristallstruktur häufig nicht mehr erkennen lassen. Bei sehr langsamer Kristallisation sind die Gebilde schon leicht mit unbewaffnetem Auge zu erkennen, und die Struktur bleibt in solchen Fällen nach dem Trocknen noch sichtbar. Kristallisiert das Sapogenin aus sehr konzentrierter Lösung, so gruppieren sich die Nadeln um einen zentralen Kern, und diese Gruppen sind dann zellenförmig an einander geschlossen.

Einen Schmelzpunkt zeigt das Sapogenin nicht; beim Erhitzen im Kapillarröhrchen beginnt bei ca. 190° eine Gelbfärbung, die bei höherer Temperatur nach und nach in Braunschwarz übergeht, bei ca. 210° zeigt sich ein Sintern und bei 220° tritt unter starker Volumvermehrung eine vollständige Zersetzung ein.

Das Sapogenin ist eine gesättigte Säure, die aus kohlensauren Alkalien CO_2 austreibt, gibt weder mit Soda noch mit fixem Alkali eine Gelbfärbung, bleibt in kalter konzentrierter Schwefelsäure gelöst, zunächst farblos; allmählich wird die Lösung aber gelblich-röt-

lich, dann rosa und schwach fluoreszierend, zuletzt kirschrot. Im Spektroskop beobachtet man dabei zuerst ein breites Absorptionsband im Grün zwischen D und E und dann erst später ein schmäleres in der Nähe von C. Sapogenin in 2proz. Lösung (mit Soda) drehte im Zweidezimeterrohr das polarisierte Licht $1,6^{\circ}$ nach rechts.

Zur Analyse wurde das Sapogenin zwei Stunden bei 110° getrocknet und im Vakuum aufbewahrt.

Elementaranalyse.

0,2324 g Substanz gaben 0,5648 g CO_2 und 0,1803 g H_2O , entsprechend:

C	66,28	Prozent
H	8,62	=
O	25,1	=

Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult.

I. 0,1923 g Substanz gaben in 16,4750 Eisessig eine Gefrierpunktserniedrigung von $0,0755^{\circ}$, entsprechend einem Molekulargewicht von

605.

II. 0,2590 g Substanz gaben in 16,2375 g Eisessig eine Gefrierpunktserniedrigung von $0,096^{\circ}$, entsprechend einem Molekulargewicht von

648.

Zur Kontrolle dieser Bestimmungen wurde noch eine Molekulargewichtsbestimmung nach der Siedemethode im neuesten Beckmannschen Dampfstromapparat ¹⁾ (Modell 1903) ausgeführt. Als Lösungsmittel wurde ganz reiner Kahlbaumscher Methylalkohol verwendet, der noch einer scharfen Fraktion unterworfen wurde. Gebraucht wurden nur solche Fraktionen, die innerhalb $0,025^{\circ}$ übergingen; im Dampfstromapparat wurden vorher auch noch genauestens die Temperaturen bei den in Betracht kommenden verschiedenen Volumina festgestellt. Äthylalkohol konnte bei der Bestimmung nicht verwendet werden, da das Sapogenin zu schlecht darin in Lösung ging.

Die Konstante für 100 g Methylalkohol beträgt $8,8^{\circ}$ ²⁾, diejenige für 100 cem Methylalkohol mußte erst bestimmt werden, was nach

1) Zeitschrift für Physikalische Chemie. Bd. 44, 164.

2) Dr. Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung. 1903. p. 285.

Beckmann¹⁾ ja leicht möglich war. Da das spezifische Gewicht von Methylalkohol beim Siedepunkt als 0,7498 ermittelt wurde, ergab sich als Konstante für 100 cem Methylalkohol.

$$\frac{8,8}{0,7498} = 11,74.$$

Molekulargewichtsbestimmung nach der Siedemethode.

0,5256 g Substanz gaben in 10,9 cem Methylalkohol eine Siedepunktserhöhung von 0,088°, in 13,9 cem Methylalkohol eine Erhöhung von 0,067°.

Die Molekulargewichte folgen aus den beiden Formeln:

$$\text{I. } M = 100 \cdot 11,74 \cdot \frac{0,5256}{10,9 \cdot 0,088}$$

$$M = 643.$$

$$\text{II. } M = 100 \cdot 11,74 \cdot \frac{0,5256}{13,9 \cdot 0,067}$$

$$M = 662.$$

Aus der Elementaranalyse des Sapogenins, pag. 253:

C 66,28 Prozent

H 8,62 =

O 25,1 =

ergibt sich das Atomverhältnis

Eine Formel $\text{C}_{35} \text{H}_{54} \text{O}_{10}$ für Sapogenin würde einem Molekulargewicht von 634 entsprechen, und diese Größe gut mit den gefundenen Molekulargewichtszahlen übereinstimmen. Berechnen würden sich für $\text{C}_{35} \text{H}_{54} \text{O}_{10}$:

C 66,24 Prozent

H 8,52 =

O 25,24 =

Das von Karl Sängner²⁾ analysierte Sapogenin weicht in seiner Zusammensetzung: C 70,27 Proz., H 11,65 Proz., O 18,08 Proz. wesentlich von unserem Sapogenin ab. Die von ihm ausgeführte Molekulargewichtsbestimmung des Sapogenins weist einen Rechnungsfehler auf und macht die aufgestellte Formel $(\text{C}_5 \text{H}_{10} \text{O})^2$ hinfällig.

1) Zeitschr. f. Physikal. Chemie. Bd. 40, 150.

2) Dissertation. München. 1904. pag. 24.

Das beim Kochen von Sapotoxin mit Säure entstehende zweite Spaltungsprodukt,

pag. 252, die in Essigäther unlösliche schwarzbraune Säure betrug, falls Roh-Sapotoxin zur Spaltung verwendet wurde, 23,2—24,1 Proz. des erhaltenen Roh-Sapogenins. Je reiner das zur Spaltung gelangte Sapotoxin war, desto geringer war auch die Menge dieser zweiten Säure; so betrug diese bei der Spaltung von reinem Sapotoxin nur 13,9 Prozent des erhaltenen rohen Sapogenins.

Einer näheren Untersuchung wurde die zweite Spaltungssäure bis jetzt nicht unterzogen.

Die weiteren Produkte der Sapotoxin-Spaltung,
die Zucker,

befinden sich im Filtrat des Roh-Sapogenins. Das Filtrat wurde zunächst mit Baryumkarbonat von Schwefelsäure befreit und nach dem Filtrieren eingedampft. Den Rückstand kochten wir mehrmals mit absolutem Alkohol aus und erhielten nach dem Verdunsten desselben einen bräunlichen Sirup, der sich als optisch inaktiv erwies, in wässriger Lösung mit Hefe innerhalb 24 Stunden fast keine Gärung zeigte, die Furfurolreaktion gab und fuchsinschweflige Säure nicht färbte. Mit Phenylhydrazin konnten wir aus ihm drei Osazone herstellen, eines vom Smp. 180°, in Gruppen von mikroskopisch feinen Nadeln, eines vom Smp. 203° in gelbbraunlichen mikroskopischen Warzen und ein drittes vom Smp. 205°, das in Kristallform, Schmelzpunkt und seiner schwachen Linksdrehung des polarisierten Lichtes — 0,1 in 12 g Eisessig im Eindezimeterrohr 0,63° — dem d-Glucosazon¹⁾ gleicht.

Sänger (Dissertation, pag. 21) erhielt auch Glucosazon und folgerte aus der Bildung desselben, daß bei der Spaltung von Sapotoxin Traubenzucker entsteht. Damit ist aber keine einwandfreie Entscheidung getroffen, da Glucosazon sich auch aus d-Fruktose bildet.

Die Natur der verschiedenen Zucker können wir noch nicht mit Sicherheit entscheiden und werden wir deshalb hierüber später nochmals berichten.

Quantitativer Spaltungsversuch von reinem Sapotoxin.

8,64 g reines bei 110° getrocknetes Sapotoxin wurden mit 150 ccm 4proz. Schwefelsäure 3½ Stunden im gesättigten Kochsalzbad erhitzt, das Roh-Sapogenin abfiltriert und ausgewaschen, bis keine

1) Berichte 23, 385.

Schwefelsäure mehr im Waschwasser war. Die Ausbeute an Roh-Sapogenin, das von braungelber Farbe war und bei 90—100° getrocknet wurde, betrug 3,2292 g = 37,37 Proz. des angewandten Sapotoxins.

Der Zuckergehalt des Filtrates vom Sapogenin wurde mit Fehlingscher Lösung nach der Soxhletschen Methode bestimmt. Da die Natur der Zucker für uns noch nicht feststeht, hat diese Bestimmung nur einen relativen Wert.

Auf Traubenzucker berechnet, lieferten die 8,64 g Sapotoxin 4,486 g Zucker = 51,92 Proz. des angewandten Sapotoxins.

Christophsohn¹⁾ fand 63,60 Proz. Zucker, Kruskal¹⁾ 66,81 Proz., Sängers²⁾ 48,66 Proz.

Derivate des Agrostemma-Sapogenins.

Acylierung des Agrostemma-Sapogenins.³⁾

Als vorläufige Mitteilung sei erwähnt, daß wir das Sapogenin mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure acyliert haben und als Hauptprodukt einen Körper erhielten, der nach längerer Zeit aus Methylalkohol kristallisierte. Als Nebenprodukt bekamen wir eine wasserlösliche Substanz, die mit Bleiacetat keine Fällung, wohl aber eine solche mit Bleiessig gab, sich also sapotoxinartig verhielt, dabei aber nicht hämolytisch wirkte. Nähere Untersuchungen darüber sind noch im Gange.

Darstellung von Sapogenin-Kalium.

In eine Lösung von 4,2 g Kaliumkarbonat in 180 ccm Wasser wurden 10 g gepulvertes Sapogenin eingetragen und durch schwaches Anwärmen auf dem Wasserbade eine gelbliche, eben noch etwas trübe Lösung erzielt. Hierzu gaben wir dann 900 ccm 90proz. Alkohol, wodurch die Lösung auch ganz klar wurde, und fällten mit 1300 ccm Äther das Kaliumsalz aus. Der weiße voluminöse Niederschlag wurde abgesaugt und betrug nach dem Trocknen 11,6 g. Durch Umkristallisieren aus ziemlich viel Alkohol von 80 Vol. Proz. erhielten wir das Sapogenin-Kalium in schönen, feinen, weißen Nadeln, die die ganze Flüssigkeit erfüllten. Die Ausbeute betrug 8,3 g.

1) Kruskal, Arbeiten d. Pharmakol. Institutes zu Dorpat. VI, 111 u. 112.

2) Dissertation. München. 1904, p. 20.

3) Siehe auch Sängers, Diss. München. 1904. p. 25.

Das Salz ist klar in Wasser löslich, reagiert auf rotem Lackmuspapier alkalisch, aber nicht auf Curemapapier. Es gibt sofortige Fällungen von Metallsalzen mit Bleiacetat, Silbernitrat, Baryumchlorid, Quecksilberchlorid, Kupfersulfat, mit Magnesiumsulfat eine solche erst nach kurzer Zeit; mit Chlormalcium entsteht auch ein Niederschlag, der sich aber wieder auflöst, solange noch überschüssiges Kalisalz vorhanden ist. Sapogenin-Kalium reduziert ammoniakalische Silberlösung und Fehlingsche Lösung beim Kochen nicht. Es kristallisiert mit Alkohol oder Wasser; denn lufttrocken verlor es bei 110° 10,92 Proz. resp. 11,28 Proz. seines Gewichts.

Kalium- und Gewichtsverlust-Bestimmung.

0,315 g Substanz wogen nach dem Trocknen bei 110° bis zur Konstanz 0,2806 g.

Abnahme: 10,92 Prozent.

Nach dem Abrauchen mit Schwefelsäure und Glühen hinterblieben 0,0719 g Kaliumsulfat, entsprechend:

K = 10,22 Proz. auf lufttrockene Substanz bezogen;

K = 11,47 Proz. auf Substanz, bei 110° getrocknet, bezogen.

0,250 g Substanz wogen nach dem Trocknen bei 110° bis zur Konstanz 0,2218 g.

Abnahme = 11,28 Prozent.

Das Natriumsalz des Sapogenins

läßt sich ähnlich wie das Kalisalz herstellen und kristallisiert aus Alkohol von 40—50 Vol. Proz. bei starkem Abkühlen auch in feinen Nadeln.

Sapogeninester-Kalisalz.

Sapogenin ließ sich mit Alkoholen direkt nicht verestern; es wurde daher der Versuch gemacht, einen Methylester des Sapogenin aus seinem Kaliumsalz und Methyljodid herzustellen, wobei aber ein Körper resultierte, den wir als Esterkalisalz anzusehen geneigt sind; das restierende Kalium soll darin auch noch durch Methyl ersetzt werden.

2 g kristallisiertes lufttrockenes Sapogenin wurden mit 25 g reinsten Methylalkohols angerieben, mit 10 g Methyljodid versetzt und auf dem Wasserbade unter Rückfluß $1\frac{1}{2}$ Stunden erwärmt. Zunächst trat eine fast vollständige Lösung ein und nach einer halben

Stunde begann eine weiße pulverige Abscheidung. Diese wurde noch warm abfiltriert und mit Methylalkohol gewaschen. Das Filtrat enthielt reichlich Jodkalium, während im Rückstand nur geringe Mengen davon enthalten waren, die sich durch Kristallisation leicht entfernen ließen. Der Rückstand betrug 1,4 g und wurde aus Alkohol von 50 Vol. Proz. umkristallisiert. Das so erhaltene Sapogenin-ester-Kalisalz ist schneeweiß, in mikroskopisch feinen Stäbchen kristallisiert und jodfrei. Im Vakuum getrocknet behält es seinen Kristallglanz, verliert aber fein gepulvert und bei 110° getrocknet bedeutend an Gewicht. In absolutem Alkohol ist es im Gegensatz zu Sapogenin sehr schwer löslich, leicht löslich in verdünntem Alkohol, in Wasser nahezu unlöslich; es quillt aber, mit wenig Wasser angerieben, zu einer schleimigen Masse auf und gibt auf rotem Lackmuspapier keine alkalische Reaktion. In Wasser fein suspendiert tritt auf Zusatz von Soda oder fixem Alkali keine sofortige Lösung ein. Beim Erhitzen im Kapillarröhrchen ist bis 200° keine Gelbfärbung sichtbar, bei ca. 225° zeigt sich Sintern unter Dunkel-färbung, bei ca. 243° tritt geringe Volumvermehrung und bei ca. 245° vollständige Zersetzung unter schwacher Gasentwicklung ein.

Kalium- und Gewichtsverlustbestimmung.

0,30015 g lufttrockene Substanz wogen nach dem Trocknen bei 107° bis zur Konstanz 0,28155 g.

Abnahme = 6,19 Prozent.

0,28155 g getrocknete Substanz gaben nach dem Veraschen mit Schwefelsäure 0,02325 g Kaliumsulfat, entsprechend

K = 3,69 Proz. auf getrocknete Substanz bezogen.

Anhang.

Über die Sapogenine von Quillajasäure und Quillajasapotoxin.

Da es uns geglückt war, reines kristallisiertes Agrostemma-Sapogenin zu bekommen und es genauer als bisher zu charakterisieren, war es für uns von besonderem Interesse, auch die Sapogenine von Quillajasäure und Quillajasapotoxin in kristallisiertem Zustande darzustellen. Hoffmann¹⁾ hat vor zwei Jahren das

1) Berichte 36, 2727.

Sapogenin aus Quillajasäure nur in Form mikroskopischer Kugeln in den Händen gehabt.

Die Quillajarinde wurde im Wesentlichen nach der von Kobert¹⁾ und Pachorukow²⁾ angegebenen Methode verarbeitet. Nur haben wir die Rinde zuerst mit Äther und dann mit absolutem Alkohol extrahiert, um Fett und Farbstoff zu entfernen. Darauf wurde mit 70proz. Alkohol in der Kälte ausgezogen und dann mit kaltem Wasser. Der alkoholische Auszug wurde zur Trockne verdampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und diese Lösung ebenso wie auch die rein wässrige Extraktion mit Bleiacetat und dann mit Bleiessig nach Kobert ausgefällt. Die Fällung mit Bleiessig war bei dem Teil, der aus dem alkoholischen Auszug herrührte, bedeutend reichlicher als bei dem nur mit Wasser erzielten Extrakt. Die weitere Darstellung von Quillajasäure und Quillajasapotoxin wurde dann ganz nach den Kobertschen Angaben ausgeführt. Aus 1200 g Rinde erhielten wir 12 g Quillajasäure und 25 g Quillajasapotoxin, beide in keinem ganz reinen Zustande, doch zur Spaltung wohl verwendbar.

Sapogenin aus Quillajasäure.

12 g Quillajasäure wurden mit 200 g 4proz. Schwefelsäure 2½ Stunden unter andauerndem Schäumen im gesättigten Kochsalzbade erhitzt, wobei die Flüssigkeit sich stark rot färbte. Der zimmtrote, voluminöse Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen, bis die Schwefelsäure vollständig daraus entfernt war, auf Ton gestrichen und zuletzt bei mäßiger Wärme getrocknet. Die Menge des rohen Spaltungsproduktes betrug 3,6 g = 30 Proz. der angewandten Quillajasäure.

Genau wie beim *Agrostemma*-Sapogenin ließ sich durch die Reinigungsmethode mit Essigäther auch hier ein zweiter Spaltungskörper isolieren. Das rohe Spaltungsprodukt von Quillajasäure wurde mit ca. ½ l Essigäther auf dem Wasserbade extrahiert und filtriert; der unlösliche Rückstand betrug 0,25 g = 6,7 Proz. und war von schokoladebrauner Farbe. Die Essigätherlösung wurde nicht sofort ganz abdestilliert, sondern zu zwei verschiedenen Konzentrationen.

Aus der ersten schied sich nach dem Erkalten 1,5 g Substanz

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharmakologie 23, 240.

2) Arbeiten d. Pharmakolog. Institutes z. Dorpat I. 5.

von bräunlichgelber Farbe ab, die sich beim Rühren mit dem Glasstab harzig anfühlte.

Das Filtrat von den 1,5 g wurde weiter konzentriert und gab eine etwas dunklere Abscheidung von 0,9 g.

Die Mutterlauge davon hinterließ einen nicht kristallisierbaren harzigen Trockenrückstand.

1,5 g Substanz gab nach Auflösung in wenig absolutem Alkohol nach einigen Wochen eine fast weiße Kristallisation von 0,65 g, 0,9 g Substanz auf dieselbe Weise eine mehr rötlichweiße Kristallisation von 0,35 g.

Aus den Mutterlaugen wurde noch auf die Weise eine weitere Kristallisation erzielt, daß sie mit Ather versetzt und von der dunklen Fällung abfiltriert wurden; das ätherische Filtrat hinterließ dann einen gelblichbraunen Rückstand, der in absolutem Alkohol gelöst, nochmals 0,25 g einer rötlichweißen Kristallisation ergab.

Im ganzen wurden also aus 3,6 g Roh-Sapogenin 1,25 g kristallisiertes Sapogenin erhalten, das durch nochmalige Kristallisation aus absolutem Alkohol vollkommen weiß in mikroskopisch feinen Nadeln dargestellt werden konnte. Es ist eine gesättigte Säure, färbt sich beim Erhitzen im Kapillarröhrchen bei ca. 180° gelb, bei steigender Temperatur allmählich dunkler, bei ca. 202° tritt ein Aufblähen ohne sichtbare Gasentwicklung ein. Beim Erhitzen auf dem Platinblech entwickelt es ein rußig brennendes Gas. Zur Analyse wurde es zwei Stunden bei 100° getrocknet.

Elementaranalyse.

0,1806 g Substanz gaben 0,4293 g CO₂ und 0,1408 g H₂O, entsprechend:

C 64,83 Prozent

H 8,66 =

O 26,51 =

Atomverhältnis C_{3,25} H_{5,21} O₁.

Berechnet für C₃₃ H₅₂ O₁₀ = 608:

C = 65,13 Prozent

H = 8,55 =

O = 26,32 =

Die von Hoffmann¹⁾ ausgeführten neun Analysen des Sapo-
genins ergaben im Durchschnitt:

1) Berichte 36, 2728.

C 65,91 Prozent

H 8,27 =

O 25,82 =

Atomverhältnis: C_{3,41} H_{5,14} O₁.

Die Molekulargewichtsbestimmung

wurde nach der Siedemethode in Äthylalkohol, der innerhalb 0,015° fraktionierte, im Dampfstromapparat von Lehner¹⁾ ausgeführt.

0,2930 g Substanz brachten in 19,3433 g Äthylalkohol eine Siedepunktserhöhung von 0,031° hervor.

K für Äthylalkohol 11,5.

Das Molekulargewicht ergibt sich aus der Formel:

$$M = 100 \cdot 11,5 \cdot \frac{0,293}{19,3433 \cdot 0,031}$$

$$M = 561.$$

Eine Molekulargewichtsbestimmung hat Hoffmann von seinem Sapogenin aus Quillajasäure nicht ausgeführt.

Sapogenin aus Quillajasapotoxin.

Obwohl Hoffmann sich die Spaltung des Quillajasapotoxins vorbehalten wollte, hielten wir uns in Anbetracht unseres besseren Ergebnisses bezüglich der Reindarstellung von Quillajasäuresapogenin für berechtigt, auch das Sapogenin aus Quillajasapotoxin in den Kreis unserer Studien zu ziehen.

25 g Quillajasapotoxin wurden, wie bei der Spaltung von Quillajasäure angegeben ist, mit 400 cem 4proz. Schwefelsäure gespalten. Das rohe Sapogenin betrug 5,65 g = 22,6 Proz. des angewandten Sapotoxins.

Durch Auflösen desselben in ca. 300 cem heißen Essigäthers hinterblieb 0,5 g Rückstand = 8,7 Proz. als zweites Spaltungsprodukt. Die Essigätherlösung wurde beinahe ganz abdestilliert und nach dem Abkühlen ein bräunlichgelber Niederschlag von 3,2 g isoliert. Die Mutterlauge davon hinterließ nach dem Verdampfen noch 2 g Trockensubstanz, die aber nicht mehr kristallisiert werden konnte.

1) Berichte 36, 1105.

Die 3,2 g Substanz wurden in ca. 6 cem absolutem Alkohol gelöst und gaben so nach ca. fünf Wochen eine fast weiße Kristallisation von 1,6 g. Durch nochmalige Kristallisation aus absolutem Alkohol wurde auch dieses Sapogenin rein weiß und in den gleichen feinen Nadeln wie das Sapogenin aus Quillajasäure erhalten, mit dem es auch beim Erhitzen im Kapillarröhrchen und beim Verbrennen auf dem Platinblech übereinstimmt.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° getrocknet.

Elementaranalyse.

0,2022 g Substanz gaben 0,4818 g CO₂ und 0,1571 g H₂O, entsprechend:

C	64,98	Prozent
H	8,60	=
O	26,42	=

Atomverhältnis: C_{3,27} H_{5,21} O₁.

Berechnet für C₃₃ H₅₂ O₁₀ = 608:

C	=	65,13	Prozent
H	=	8,55	=
O	=	26,32	=

Die Molekulargewichtsbestimmung wurde in Äthylalkohol wie die vom Sapogenin aus Quillajasäure nach der Siedemethode ausgeführt.

0,29975 g Substanz brachten in 18,2091 g Äthylalkohol eine Siedepunkterhöhung von 0,032° hervor.

K für Äthylalkohol 11,5.

Das Molekulargewicht ergibt sich aus der Formel:

$$M = 100 \cdot 11,5 \cdot \frac{0,29975}{18,2091 \cdot 0,032}$$

$$M = 591.$$

Aus den Elementaranalysen, den Molekulargewichtsbestimmungen und dem physikalischen Verhalten der beiden Sapogenine von Quillajasäure und Quillajasapotoxin folgt, daß sie identisch und dem Agrostemma-Sapogenin nahe verwandt sind.

Pharmakologischer Teil.

(Gemeinsam mit Herrn A. Vierling.)

Agrostemma-Sapotoxin.

Das von uns dargestellte Ag.-Sapotoxin weicht, wie im vorigen Abschnitte gezeigt wurde, in seiner elementaren Zusammensetzung beträchtlich von dem Kruskalschen Präparate ab. Bei der Prüfung seiner Giftigkeit ergibt sich aber, wie nachfolgende Versuche zeigen, große Übereinstimmung.

Wirkung auf Blut.

Wir benutzten defibriertes und filtriertes Blut oder durch Zentrifugieren vom Serum befreite Blutkörperchen. Das Blut wurde mit der 100 fachen Menge physiologischer (0,9proz.) Kochsalzlösung verdünnt, das von den Blutkörperchen getrennte Serum durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt und von letzterem Gemisch eine Verdünnung mit Kochsalzlösung in gleichem Verhältnis wie beim Blut hergestellt. Die Reaktion verlief stets in 25 cem Flüssigkeit.

Versuch 1. Meerschweinchenblut. T. 17°.

Ag.-Sapotoxin (mg)	Vollständige Lösung	Verdünnungsgrad
5	sofort	1:5000
2,5	2 Min.	1:10 000
0,5	8 "	1:50 000

Versuch 2. Rinderblut. T. 15°.

Sapotoxin mg	Teilweise Lösung	Vollständige Lösung	Verdünnungsgrad
5		sofort	1:5 000
2,5	4 Min.	20 Min.	1:10 000
1	60 "	120 "	1:25 000
0,5	12 Stund.		1:50 000

Versuch 3. Blutkörperchen (Rind). T. 15°.

Sapotoxin mg	Teilweise Lösung	Vollständige Lösung	Verdünnungsgrad
1	40 Min.	60 Min.	1:25 000
0,5		12 Stund.	1:50 000
			18*

Das Ag.-Sapotoxin bewirkt demnach noch in sehr großer Verdünnung in kurzer Zeit Hämolyse. Besonders empfindlich dagegen scheint Meerschweinchenblut zu sein. Während Rinderblut von dem Gifte in einer Verdünnung von 1 : 25000 erst nach zwei Stunden vollständig gelöst, in einer Verdünnung von 1 : 50000 erst nach 12 Stunden teilweise Veränderung zeigt, werden die vom Serum befreiten roten Blutkörperchen im ersteren Falle bereits nach 60 Minuten, im letzteren nach 12 Stunden vollständig gelöst.

Über das Lackfarbenwerden des Blutes hat H. Köppe¹⁾ mit verschiedenen Stoffen, von denen bekannt ist, daß sie hämolytisch wirken, Versuche angestellt und gefunden, daß Hämolyse bewirkt wird 1) durch destilliertes Wasser, 2) durch Wärme, 3) durch Wasserstoffionen, 4) durch Hydroxylionen, 5) durch eine Reihe von Stoffen, welche Fette lösen. Köppe stellte sodann die drei Hypothesen auf:

„I. Die roten Blutscheiben sind von einer halbdurchlässigen Wand umgeben.

II. Die halbdurchlässige Wand der roten Blutscheiben besteht aus einem fettähnlichen Stoffe oder enthält einen solchen Stoff als wesentlichen Bestandteil (Lecithin — Cholesterin?)

III. Zerstörung der halbdurchlässigen Wand macht die roten Blutscheiben lackfarben.“

Gegen diese Hypothesen erhebt Gryns²⁾ Widerspruch.

Vorher hat Ransom³⁾ gefunden, daß die Empfindlichkeit der gewaschenen roten Blutkörperchen gegen Saponin (Merck) bedeutend erhöht ist — Saponin gab noch in einer Verdünnung von 1 : 200 000 bei vom Serum befreiten Erythrocyten die charakteristische Reaktion, im Vollblut dagegen bei einer Verdünnung des Saponins auf 1 : 40 000 nicht mehr. Es gelang ihm, sowohl in den Blutkörperchen als auch im Serum einen in Äther löslichen Körper aufzufinden, der die Eigenschaft besitzt, das Saponin zu binden. In beiden Fällen ergab die Untersuchung des Athereextrakts hauptsächlich Cholesterin.

Ransom stellte sich dann Emulsionen von Saponin mit Cholesterin her und prüfte sie am Hundeblood, durch subkutane Injektion bei Fröschen und intravenöse Injektion an Meerschweinchen. In

1) Archiv f. d. gesammte Physiologie. Bd. 99, S. 33; Bd. 103, 1904, S. 140; Bd. 107, 1905. S. 183.

2) Archiv f. d. gesamte Physiologie. Bd. 109. 1905. S. 289.

3) Deutsche med. Wochenschrift. 1901. S. 194.

allen Fällen war Saponin wirkungslos. Auf Grund dieser Ergebnisse kam er zu dem Schlusse, daß das Sapotoxin für die roten Blutkörperchen giftig sei, indem es einen wesentlichen Teil ihrer Struktur — das Cholesterin — angreift.

Kobert¹⁾ stellte Verbindungen von Sapotoxin mit Lecithin und mit Cholesterin her und fand bei der Prüfung dieser Substanzen auf Blut, daß der Lecithinverbindung eine Wirkung zukomme, der Cholesterinverbindung dagegen nicht. Kobert rechnet auf Grund seiner Erfahrungen die Saponinsubstanzen zu jenen Stoffen, welche Fette beziehungsweise Lecithin lösen.

Olinto Pascucci²⁾ hat, gestützt auf die Untersuchungen von Wooldridge quantitativ festgesetzt, daß fast ein Drittel der Trockensubstanz des Blutscheibenstromas vor allem aus Lecithin und Cholesterin besteht. Ausgehend von der Erwägung, daß möglicherweise die hämolytische Wirkung gewisser Stoffe durch chemische Veränderung, Auflösung oder Anätzung der Blutscheibenmembranen zustande kommen könnte, stellte er Versuche mit Dialysatoren an, deren Membranen aus Seidenstoff bestanden, der mit Cholesterin oder Lecithin-Cholesteringemenge in passender Weise imprägniert war. Als Farbstoffe dienten Hämoglobin oder Cochenille.

Von Alkohol, Äther, Benzol, Xylol und Chloroform wurden die Membranen mehr oder weniger rasch angegriffen; Ammoniak, kohlensaures Ammoniak, kohlensaures Natron machten die Lecithinmembranen durchlässig, nicht aber die Cholesterinmembranen.

War dieses Ergebnis für die genannten Körper zu erwarten, so mußte es umsomehr auffallen, daß auch Stoffe wie Saponin, Solanin etc. in gleicher Weise die Membranen durchlässig machten. Nachdem nachgewiesen ist, daß Cholesterin und Cerebrin imstande sind, die hämolytische Wirkung verschiedener Stoffe abzuschwächen, so liegt die Annahme nahe, daß ähnliche Vorgänge auch bei der Hämolyse sich abwickeln.

W. Hausmann³⁾ studierte die Entgiftung des Saponins a) durch Cholesterin $C_{27}H_{43}OH$, einem einwertigen Alkohol mit einer Doppelbindung, b) durch Cholesterinderivate, in denen teils die Hydroxylgruppe substituiert, teils die Doppelbindung aufgehoben ist, c) durch Phytosterin, und kam zu folgenden Resultaten:

1) Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. 1904.

2) Beiträge zur chem. Physiologie u. Path. 1905. Bd. VI, S. 543 u. S. 552.

3) Beiträge zur chem. Physiol. u. Path. 1905. Bd. VI, S. 567.

„1. Durch Besetzung der Hydroxylgruppe wird die entgiftende Wirkung des Cholesterins auf Saponin aufgehoben.

2. Die Aufhebung der doppelten Bindung des Cholesterins durch Chlor oder Wasserstoff schwächt die entgiftende Wirkung, ohne sie aufzuheben.

3. Phytosterine verschiedener Herkunft schützen ebenfalls gegen Saponin.“

Im Anschlusse an diese interessanten Tatsachen haben wir auch hinsichtlich der Entgiftung des Ag.-Sapotoxins mit Cholesterin Versuche angestellt. Das von uns aus Gallensteinen hergestellte Cholesterin wurde nach Ransoms Angabe in Äther gelöst, in einprozentige Sapotoxinlösung gebracht und nach dem Verjagen des Äthers die erhaltene Emulsion auf ihre Wirksamkeit auf Blut geprüft. Es hat sich gezeigt, daß das so behandelte Ag.-Sapotoxin selbst in einer Menge von 0,01 g keine Hämolyse mehr zustande brachte. Sodann wurden auch Ag.-Sapotoxin und Cholesterin in alkoholischer Lösung gekocht, zur Trockne gebracht, der Rückstand nach dem Ausziehen mit Äther mit physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Die schwach opalisierende Lösung zeigte ähnliches Verhalten wie die von Kobert gewonnene Sapotoxin-Cholesterinverbindung. Schwefelsäure bewirkte einen milchigen Niederschlag, der sich in Natronlauge wieder löste. Die von E. Hirschsohn¹⁾ angegebene Cholesterinreaktion fiel positiv aus.

Daß das Ag.-Sapotoxin durch die genannte Behandlung eine bedeutende Abschwächung erfahren hatte, zeigte sich besonders in seinem Verhalten zum Blut, indem nur mehr in einer Verdünnung von 1 : 2500 nach 16 Stunden teilweise Lösung erfolgte. Wie später gezeigt wird, tötet das Ag.-Sapotoxin subkutan in Mengen von 25 mg p. kg Meer-schweinchen sicher. Bei Anwendung von Cholesterin-Sapotoxin hingegen blieben die Tiere nach Injektion der doppelten und auch der dreifachen Menge am Leben.

Möglicherweise ist das Ag.-Sapotoxin auch in den Kornradesamen schon in einer ähnlichen Verbindung enthalten, wenigstens wurde von Sängner (l. c.) im fetten Öle der Kornradesamen Phytosterin nachgewiesen.

Versuche an Fröschen.

Bringt man einem Frosche Ag.-Sapotoxin in einer Menge von 15 — 25 mg in den Rückenlymphsack, so zeigt das Tier heftige

1) Pharmaceut. Centralhalle. Jahrg. 43. 1902. S. 357.

Schmerzensäußerungen, bleibt aber nach einigen Minuten ruhig sitzen. Willkürliche Bewegungen erfolgen selten. Nach 20 — 40 Minuten erträgt der Frosch die Rückenlage, welche er selbst auf stärkeren mechanischen Reiz beibehält — es folgen nur mehr reflektorische Bewegungen. Die Respiration, anfänglich sehr beschleunigt, wird um diese Zeit sehr oberflächlich, aussetzend, kehrt auf mechanischen Reiz auf kürzere Zeit wieder.

Nach etwa $1\frac{1}{2}$ — 3 Stunden können Reflexbewegungen nicht mehr ausgelöst werden. Die Lähmung erstreckt sich auch auf die Extremität, deren Hauptarterie unterbunden ist.

Die Herzpulsationen sind nach dem Respirationsstillstand sehr verlangsamt und abgeschwächt. Auf eine sehr lange Diastole folgt eine nicht vollkommene Systole, die Vorhöfe füllen sich nur allmählich. Völliger Herzstillstand in der Diastole tritt erst einige Zeit nach dem Erlöschen der Reflexe ein. Muskeln und Nervenstämmen sind noch längere Zeit nach der Injektion erregbar.

Die genannten Erscheinungen erfolgten oft unabhängig von der Gabengröße bald in kürzeren, bald in längeren Zwischenräumen. Nach Einverleibung größerer Mengen (über 25 mg) treten die gleichen Erscheinungen nur rascher ein. Motorische Reizercheinungen, Krämpfe, konnten auch dann nicht wahrgenommen werden, wenn ganz geringe Mengen in Anwendung kamen. Nach Applikation von 10 mg Ag.-Sapotoxin gingen Tiere am dritten Tage unter den gleichen Erscheinungen zugrunde oder aber, was meistens der Fall war, sie erholten sich vom zweiten Tage an wieder. In letzteren Fällen bildete sich an der Injektionsstelle ein nekrotischer Herd aus.

Versuch 4.

Frosch.

Arter. ischiadic. sinistr. am Oberschenkel unterbunden.

- 10h 30' in den Rückenlymphsack 25 mg Sapotoxin in einprozentiger wässriger Lösung; Schmerzensäußerung einige Minuten.
- 10h 45' sitzt ruhig; Respiration angestrengt, unregelmäßig.
- 10h 50' erträgt die Rückenlage, verändert sie auch auf Kneipen nicht; Respiration sehr oberflächlich.
- 10h 55' reagiert nur an den Vorderextremitäten auf Kneipen.
- 11h 30' Respiration steht still; Herztätigkeit schwach, verlangsamt.
- 12h 55' keine Reaktion auf mechanischen Reiz hin, Herzpulsationen sehr schwach.
- 1h 25' Herz schlägt nur mehr auf mechanische Reize.
- 1h 40' Herz in Diastole still; nicht mehr erregbar.

Farad-Reizung	Linkes Bein		Rechtes Bein	
	Nerv	Muskel	Nerv	Muskel
3 h 45'	34	R. A. 28	34	R. A. 23
7 h 15'	17	= = 15	17	= = 13

Versuch 5.

Frosch.

- 9h in den Rückenlymphsack 15 mg Sapotoxin in einprozentiger wässriger Lösung.
- 9h 15' Respiration sehr beschleunigt, unregelmäßig.
- 9h 25' erträgt die Rückenlage, auf Kneipen sucht sich das Tier zu wenden.
- 9h 35' Respiration sehr unregelmäßig.
- 9h 40' verändert die Rückenlage auf Reiz nicht mehr; Respiration sehr verlangsamt (15), aussetzend.
- 9h 55' Respiration steht still, setzt auf Reiz wieder ein; Herztätigkeit verlangsamt.
- 10h 10' Respiration vollkommen still, Herzkontraktion schwächer, die Vorhöfe füllen sich allmählich.
- 10h 30' Reflexe verschwunden.
- 10h 40' Herztätigkeit äußerst schwach.
- 11h 30' Herz steht still, noch erregbar.
- 11h 40' Herz nicht mehr erregbar.

Versuch am Reflexfrosch.

Es ist für die Saponinsubstanzen bekannt¹⁾, daß sie nach subkutaner Applikation Anaesthesie und motorische Lähmung bewirken infolge direkter lokaler Abtötung der peripheren sensiblen und motorischen Nerven sowie auch der Muskeln. Die gleichen Eigenschaften ermittelte Perles²⁾ für das Solanin. Um zu erfahren, in welcher Menge unser Sapotoxin eine derartige Wirkung zustande bringt, wurden die nachfolgenden Versuche angestellt.

Versuchsanordnung nach Türk-Setschenow³⁾

Versuch 6.

Die Zuckung erfolgt an beiden Hinterbeinen nach 2 Metronomschlägen (100 in der Minute). Injektion von 2 mg Sapotoxin in einprozentiger Lösung unter die Haut des linken Wadenmuskels.

	Linkes Bein.		Rechtes Bein	
4h	nach 3	Schlägen	nach 2	Schlägen
4h 5'	= 50	=	= 2	=
4h 10'	= 200	= nicht	= 2	=

Induktionsströme bewirken keine Zuckung.

1) Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen 1904.

2) Archiv f. exp. Path. u. Pharmakolog. 26. S. 88.

3) Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen. 2. Aufl. S. 191.

Versuch 7.

Die Zuckung erfolgt an beiden Hinterbeinen nach 3 Metronomschlägen. Injektion von 1 mg Sapotoxin unter die Haut des linken Wadenmuskels.

Linkes Bein.				Rechtes Bein.		
4h 20'	nach 2	Schlägen		nach 3	Schlägen	
4h 25'	= 4	=		= 3	=	
4h 30'	= 32	=		= 3	=	
4h 35'	= 150	= nicht		= 3	=	
5h	Induktionsströme bewirken keine Reaktion.					

Nach den Versuchsergebnissen ruft das Ag.-Sapotoxin schon in ganz minimalen Mengen in sehr kurzer Zeit lokale Anaesthesie und Störung der Motilität hervor.

Wirkung auf den Muskel.

Läßt man auf den *Musc. sartorius* eines Frosches eine Ag.-Sapotoxin-Kochsalzlösung einwirken, so zuckt der Muskel kurze Zeit, verändert bald darauf seine Farbe und zeigt deutliche Trübung. Die Erregbarkeit nimmt ziemlich schnell ab; sie ist bei einer 0,5 prozentigen Giftlösung schon nach 5 Minuten, bei einer 0,25 prozentigen nach 20 Minuten, bei einer 0,1 prozentigen nach 40 Minuten aufgehoben.

Versuche an motorischen Nerven.

Bringt man den *Nerv. ischiadicus* in eine Sapotoxinkochsalzlösung und den damit verbundenen *Musc. gastrocnemius* in physiologische Kochsalzlösung, so folgen je nach Konzentration der Giftlösung länger oder kürzer dauernde Bewegungen der Zehen. Auf dieses Stadium der Erregung folgt die gegen das Muskelende allmählich fortschreitende Lähmung. Bei Anwendung einer einprozentigen Giftlösung rufen die stärksten faradischen Ströme nach 50 Minuten keine Zuckung mehr im Muskel hervor; bei einer 0,5 prozentigen Lösung trat die Erscheinung nach 1½ Stunden ein. In allen diesen Fällen zeigten sich die Nervenabschnitte, welche mit der Giftlösung nicht in Berührung waren, noch lange nachher durch ganz schwache Induktionsströme erregbar. Diese Ergebnisse bestätigen demnach die Befunde Kruskals vollständig.

Das Ag.-Sapotoxin schädigt schon in ganz geringen Mengen das Muskel- und Nervengewebe; der Muskel verliert seine Erregbarkeit selbst in schwächeren Lösungen rascher als der Nerv. *)

*) Eingehendere mikroskopische Untersuchungen über die Einwirkung von Ag.-Sapotoxin auf die verschiedenen Gewebe sind im Gange.

Wirkung auf Säugetiere.

Wirkung bei intravenöser Injektion.

Bei den Versuchstieren (Hunden, Kaninchen, Schweinen) erfolgte nach geeigneten Mengen der Tod infolge zentraler Lähmung, zunächst infolge Respirationslähmung.

Beim Hunde treten in der Regel in den ersten 2 — 4 Stunden nach der Applikation des Giftes keinerlei Erscheinungen auf. Dann aber zieht sich das Tier scheu zurück und bleibt, lange den Blick nach der gleichen Stelle richtend, stehen. Vorgesetztes Futter wird nicht berührt, hingegen Wasser mit Vorliebe aufgenommen. Nach etwa 5 Stunden erfolgen Würgebewegungen; Erbrechen schaumiger, schleimiger Massen stellt sich wiederholt ein. Der Gang wird allmählich schwankend, eine gewisse Schwäche der Hinterbeine fällt besonders auf. Der abgesetzte Kot ist anfänglich dünnbreiig, später dünnflüssig, blutig gefärbt.

Nun treten bereits Symptome beginnender zentraler Lähmung deutlicher hervor. Das Tier reagiert zwar auf Anrufen, kehrt aber mühsam sich schleppend, apathisch an seinen Platz zurück und verfällt nach einiger Zeit in einen komatösen Zustand.

Die Respiration, meist schon ziemlich früh beschleunigt, wird mit dem Eintritte des Koma unregelmäßig, oft längere Zeit aussetzend, angestrengt und erlischt dann vollkommen — (Lähmung des Respirationszentrums).

Der Puls erfährt erst im späteren Stadium der Vergiftung eine Zunahme, mit dem Beginne des Koma aber allmähliche Abnahme der Frequenz, er wird schwächer und zuletzt kaum fühlbar.

Das Herz schlägt nach dem Respirationsstillstand noch kurze Zeit fort.

Unmittelbar vor dem Tode konnten einige kurzdauernde Streckkrämpfe, besonders der Hinterbeine wahrgenommen werden.

Während beim Hund schon nach einer Dosis 2,5 mg p. kg der Tod nach 15 Stunden eintrat, erfolgte bei Kaninchen nach Gaben von 10 mg p. kg in mehreren Fällen nur vorübergehende Erkrankung, indem sie anfänglich vermehrte Respiration zeigten und etwa 4 Tage die Futteraufnahme verweigerten. Tödliche Vergiftungen erfolgten erst nach Dosen von 15 mg p. kg. In letztem Falle nahmen die Tiere nach 1 — 2 Tagen kein Futter, aber sehr viel Wasser auf. Entweder verfällt dann das Tier in einen längerdauernden komatösen Zustand, oder aber es tritt nach einigen kurzdauernden Streck-

krämpfen plötzlich Respirationslähmung ein. Die Respiration wird beschleunigt und unregelmäßig. Das Herz schlägt nach dem Atmungsstillstand noch kurze Zeit. Der Harn ist im späteren Stadium meist eiweißhaltig.

Bei einem Schwein trat nach einer Gabe von 12 mg p. kg nach 2 Stunden heftiges Erbrechen auf, das Tier speichelte längere Zeit und reagierte nach 6 Stunden auf keinerlei mechanischen Reiz mehr. Die Respiration war sehr angestrengt, dann aussetzend — der Tod erfolgte 10 Stunden nach der Applikation des Giftes.

Der Sektionsbefund ergab in allen Fällen vollkommene Übereinstimmung mit den Angaben, welche von Kruskal über das Ag-Sapotoxin und von Kobert¹⁾ über die Quillajasäure gemacht wurden. (Die Sektionsergebnisse nach intravenöser Vergiftung sollen im Zusammenhang mit den Vergiftungen nach subkutaner Injektion Erwähnung finden.)

Versuch 8.

Hund 6910 g erhält 17 mg Sapotoxin, p. kg 2,5 mg in die V. jugularis.

10. VII. 05.	11h	Injektion.
	2h	Respiration angestrengt 62. P. 84. T. 40,5.
	6h	Würgbewegungen, Erbrechen schaumiger Massen.
	8h	schäumt sehr stark, wiederholtes Erbrechen schleimiger Massen, steht ungern auf. R. 42. P. 120. T. 39,8.
	12h	schwankender Gang, dünnflüssiger, blutig gefärbter Kot. R. 30. P. 130. T. 37,7.
11. VII 05.	1h 10'	nachts bewusstlos, Cornea nur schwach reagierend, Pupille erweitert, R. 26, sehr angestrengt. P. 74. T. 37,4.
	1h 30'	leichter Streckkrampf der Hinterbeine. R. 20 P. 70, fadenförmig. T 37,2.
	1h 40'	Puls unfeelbar. T. 37,1.
	2h 35'	Respiration aussetzend. T. 36,5.
	2h 40'	Respiration steht still — Herz schlägt noch einige Zeit.

Sektionsbefund.

Darm stark kontrahiert; Dünndarm mit klebrigen, schleimigen sepiafarbigen Massen gefüllt, die Schleimhaut verquollen, an zahlreichen Stellen Blutungspunkte und intensiv rot gefärbte Streifen, besonders deut-

1) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Jahrg. 1887. Bd. 23. S. 260.

liche hämorrhagische Fleckchen im Dickdarm; Magenschleimhaut verquollen, besonders in der Fundus- und Pylorusgegend dunkelrot verfärbt. Durch das ganze Pankreas zerstreut liegen zahlreiche, stecknadelkopfgroße Blutungspunkte. Die Mesenterialdrüsen vergrößert und sehr stark hyperämisch.

Die Lymphdrüsen an der Lungenwurzel stark vergrößert und mit Blutungspunkten durchsetzt. An der Basis der Segelklappen der linken Herzkammer zahlreiche Blutungspunkte. Nieren stark hyperämisch. Die Harnblase zeigt streifige Rötung.

Versuch 9.

Kaninchen 2990 g erhält 45 mg, Ag-Sapotoxin p. kg 15 mg in die V. jugularis.

11. VII. 05. 4h 30'	Injektion.
12. VII. 05. 9h	vorm. Respiration 64; frißt ganz wenig, nimmt sehr viel Wasser auf.
13. VII. 05. 8h	abends Resp. 58.
10h	= R. 46; auffallende Schwäche der hinteren Extremitäten, Gang sehr unsicher, Harn eiweißhaltig.
14. VII. 06. 8h	morgens R. 24, angestrengt. Tier kann sich nicht mehr von der Stelle bewegen, liegt auf der Seite. Pupille erweitert, reagiert auf Lichtreiz sehr schwach.
11h 30'	Resp. 30, unregelmäßig; T. 34,6; reagiert auf Nadelstiche sehr wenig.
1h 30'	Reagiert auf Reiz nicht mehr. Herztätigkeit schwach, unregelmäßig. Trismus, leichte Krämpfe.
2h	Trismus, Resp. steht still, Herz schlägt noch kurze Zeit.

Sektionsbefund.

Die Darmgefäße sowie die Mesenterialgefäße zeigen sehr starke Injektion. Die Schleimhaut des Duodenums ist sehr stark gerötet und zeigt diffuse Blutungen, der Inhalt ist mit Blut vermengt. Der Blinddarm stark verquollen, unter der Schleimhaut befinden sich zahlreiche punktförmige Blutungsherde. Anfangsteil des Mastdarms sehr verdickt und verquollen. Unter der Schleimhaut der Trachea und der größeren Bronchien diffuse Blutungen. Die Koronargefäße des Herzens sind sehr stark gefüllt; im Herzen finden sich an den Segelklappen mehrere Blutungspunkte. Die Nieren zeigen trübe Schwellung; Rinden- und Marksubstanz undeutlich von einander abgegrenzt, die Marksubstanz graurot. Im Psoas minor liegt ein wallnußgroßer Blutungsherd.

Versuch 10.

Schwein 16 kg erhält 200 mg, Ag.-Sapotoxin p. kg 12 mg in die Vena jugularis.

19. VII. 05. 4h Injektion.
 7h erbricht mehrmals, speichelt sehr stark.
 7h 30' steht nicht mehr auf; Resp. angestrengt 36.
 10h Resp. sehr angestrengt 42; reagiert auf Stechen nicht.
 12h status indem.
20. VII. gegen 2h Tod.

Sektionsbefund. *)

Die Unterhaut und die Muskeln zeigen keine Anomalien. Das Blut, welches aus den Achselgefäßen kommt, ist dünnflüssig und etwas lackfarbig. Bauchhöhle und Brusthöhle frei von pathologischer Flüssigkeit. Die Milz zeigt scharfe Ränder, blau-violette Färbung und hat nur an den Rändern dunkle, schwarz-violette Stellen, die leicht verdickt und nicht scharf abgegrenzt sind (geringgradige Stauungsinfarkte). Im Magen findet sich stark blutrot gefärbte, mit gallertartigen Flocken gemengte Flüssigkeit. Die Magenschleimhaut zeigt an der Fundusportion scharlachrote, dunkelgraurote, teilweise schwarzrote Färbung in einer Ausdehnung von 10 cm Querdurchmesser und ca. 20 qcm Oberfläche, während die Schlundhälfte des Magens und der Blindsack nur eine grauweiße Färbung und gelatinöse Verquellung der Schleimhaut zeigen. In der Pylorusportion verliert sich die dunkle Färbung, die Schleimhaut gelblichweiß, der Pyloruswulst ist rotbraun, und fleckig gerötet. Der Dünndarm, in der ersten Hälfte äußerlich rotgrau, enthält rötlich gefärbte Flüssigkeit, in der weiteren Fortsetzung grau bis braungelb gefärbte schleimige Massen. Die Schleimhaut des Duodenums ist gallig gefärbt, sammtartig mit vereinzelt zentimeterlangen, schwarzrot verquollenen Stellen an der Einmündung des Pankreas. An der Schleimhaut des Dünndarms finden sich überall verstreute, schwarzrote kleine Blutungen, namentlich auf der Höhe der Falten. Auch im Dickdarm finden sich verstreut kleine Blutungsflecken. An den Nieren zeigt die Marksubstanz rotbraune Farbe, ohne daß Blutungen zu bemerken sind. Die Lymphdrüsen entlang der Aorta und die bronchialen Lymphdrüsen sind schwarzrot gefärbt. Im Herz ist nur flüssiges lackfarbiges Blut.

Wirkung des Ag.-Sapotoxins bei subkutaner Injektion.

Die nun folgenden Versuche wurden an Hunden, Meerschweinchen und Kaninchen angestellt.

Bei den Versuchen an Fröschen wurde bereits konstatiert, daß die Injektion von Ag.-Sapotoxin in subkutane Gewebe sehr schmerzhaft und in den Fällen, in denen der Tod des Tieres nicht erfolgte,

*) Mitgeteilt aus dem patholog. Institut der k. tierärztlichen Hochschule.

die Injektionsstelle nekrotisch wurde. Diese Erscheinungen traten bei den Säugetieren in umso höherem Grade zutage. Die Injektionsstellen zeigten schon in den ersten Tagen hochgradige, meist hämorrhagische Entzündung; vom 3. oder 4. Tage an konnte oft weit- ausgedehnte Ödembildung wahrgenommen werden. Überstand das Tier die Vergiftung, so verschwand das Ödem nach 6—8 Tagen und es wurde an der Injektionsstelle ein oft talergroßer nekrotischer Herd sichtbar, der nach einiger Zeit ohne weiteres durch gesundes Gewebe ersetzt wurde.

Gleich nach der Injektion stellt sich bei den Tieren Unruhe und Unbehagen ein, offenbar infolge der lokalen Schmerzempfindungen. Mengen von 24 mg, p. kg töteten Hunde nach Verlauf von 5 Tagen, 12 mg p. kg nach 1½ Tagen, 10 mg p. kg nach 3½ Tagen. Offenbar ist die Geschwindigkeit der Resorption beeinflußt durch die Ödembildung.

Bei Meerschweinchen wirkte das Gift in einer Menge von 25 mg p. kg, in 2—3 Tagen sicher tötend. Nach geringeren Mengen trat vom 3. Tage an wieder Erholung ein. Kaninchen — es wurden stets Tiere verwendet, deren Körpergewicht über 1600 g betrug — erlagen erst nach einer Gabe von 40 mg p. kg. Als hauptsächlichste Symptome bei der subkutanen Vergiftung beobachtet man wieder die der progressiven allgemeinen Lähmung — Lähmung des Respirationszentrums.

Die Temperatur zeigte auch hier wieder anfänglich eine geringe Steigerung, kehrte dann längere Zeit wieder zur Norm zurück, um dann allmählich unter die Norm herabzusinken.

Versuch 11.

Hund 7 000 g erhält 80 mg Ag.-Sapotoxin 10 mg, p. kg subkutan.

5. VI.	05. 7h	morgens	Injektion. Bald darauf Unruhe.
	5h	abends	Speichelfluß. Die Umgebung der Injektionsstelle zeigt eine schmerzhafteste Geschwulst. T. 40,1. Resp. 60. P. 96.
	11h	nachts	nimmt vorgesetztes Futter auf. T. 39,2. P. 60.
3. VI.	8h	morgens	nimmt kein Futter auf, teilnahmslos. T. 39,9. P. 90.
	3h		Geschwulst zurückgegangen; steht ungern auf.
4. VI.	9h	morgens	folgt auf Anrufen, frißt nicht. T. 37,4. P. 70.
	10h		erbricht wiederholt schleimige Massen; wiederholtes Auftreten epileptiformer Krampfanfälle. Respiration beschleunigt, unregelmäßig.
	12h		
	9h	abends	geht mühsam, ungern. T. 37,1.

5. VI. 7h 30' morgens liegt auf der Seite, reagiert auf Reize schlecht. R. angestrengt, sehr unregelmäßig, ab und zu leichte Streckkrämpfe und Zuckungen in einzelnen Muskelgruppen.
- 10h Lidreflex verschwunden, Respiration oberflächlich, unregelmäßig, leichte Krämpfe. T. 35,0.
- 2h 30' T. 32,3. Puls kaum fühlbar, heftiger Streckkrampf. Respirationsstillstand. Herz schlägt noch schwach kurze Zeit.

Sektionsbefund.

Die Muskelpartien unter der Injektionsstelle sind graugelb verfärbt. Der Darmtraktus befindet sich in starker Kontraktion. Der Dünndarm ist gefüllt mit schleimigen sepiafarbigen Massen, die Darmschleimhaut fleckig gerötet, desgleichen der Dickdarm. Die Magenschleimhaut zeigt unter dem schleimigen sepiafarbigen Belag diffuse Rötung und besonders in der Fundusgegend mehrere schwarze Flecke. Auf der Milzoberfläche sind zahlreiche stecknadelkopfgroße, dunkelrot gefärbte Blutungspunkte sichtbar. Im Lungenparenchym finden sich verteilt mehrere schwarze Fleckchen. Herz in Diastole zeigt vollständig schlaffe Muskulatur. Die Nieren, an der Oberfläche hämorrhagisch verfärbt, zeigen im Durchschnitt nichts Besonderes. Die Blase stark kontrahiert, die Blasenschleimhaut läßt leichte streifige Hämmorrhagien erkennen.

Versuch 12.

Kaninchen 2430 g erhält 96 mg Ag.-Sapotoxin, 40 mg p. kg subkutan.

10. X. 05. 4h Injektion. Große Unruhe und Schmerzensäußerungen.
- 8h Resp. 60, angestrengt. T. 37,5.
11. X. 2h 30' morgens Resp. tief, unregelmäßig, 38. Auf Reiz kaum reagierend. T. 36,5.
- 2h 55' nach einem leichten Krampfanfall erlischt die Respiration, Herz schlägt noch äußerst schwach.

Sektionsbefund.

Das Unterhautzellgewebe von der Injektionsstelle aus sulzig infiltriert. Die Pylorusportion des Magens erscheint schon äußerlich stark gerötet. Die Schleimhaut des Pylorus und des Fundus stark dunkelrot verfärbt; im Fundus finden sich noch weißgelb gefärbte Stellen mit roter Umrahmung, teilweise fast marmoriert aussehend (Nekrose). Die Schleimhaut des Dünndarms zeigt einen schmierigen sepiafarbigen Belag, unter dem sich diffuse hochgradige Rötung hinzieht. An der Klappengrenze des linken Ventrikels vereinzelte kleine Blutungspunkte.

Versuch 13.

Meerschweinchen 577 g erhält 18 mg, p. kg 30 mg subkutan.	
26. VI. 05. 9h 30'	Injektion. Große Unruhe.
10h 30'	nimmt Futter auf.
27. VI. 10h morgens	Respiration vermehrt, Futteraufnahme gut.
11h abends	Resp. sehr unregelmäßig; noch beweglich.
28. VI. 8h morgens	liegt auf der Seite; Respiration angestrengt, aussetzend; reagiert auf Reize nicht.
9h	leichter Krampfanfall; Respirationsstillstand.

Sektionsbefund.

Das Unterhautzellgewebe von der Injektionsstelle aus sulzig verquollen, stark gerötet. Die Darmgefäße strotzend gefüllt. Nur der Dünndarm zeigt sepiafarbigen schleimigen Belag und die Schleimhaut zahlreiche Blutungspunkte auf diffuser Rötung.

Die Koronararterien sehr stark gefüllt, an der Klappengrenze zahlreiche Hämorrhagien.*)

Der Sektionsbefund nach subkutaner Vergiftung gibt im wesentlichen das gleiche Bild wie bei den nach intravenöser Injektion getöteten Tieren.

Die Injektionsstelle ist nach etwa 4 Tagen in der Ausdehnung eines Fünfmarkstückes haarlos. Unter dieser Stelle ist das Unterhautzellgewebe, die Fascien und die Muskulatur grüngelb verfärbt und mit schmierigen grüngelben Massen bedeckt. Diese Mißfärbung ist in einem beträchtlichen Umfange erkenntlich. Die Muskulatur läßt an Durchschnitten diese Verfärbung noch in einer Tiefe von 1 cm erkennen und weist verschiedene kleine mit schmierigen grüngelben Zerfallsmassen angefüllte Kavernen auf.

Die schwersten anatomischen Veränderungen weist in der Regel der Magendarmtraktus auf.

Auffallende Veränderungen in der Magenschleimhaut zeigen sich besonders an der Fundusportion, scharlachrote, teilweise schwarzrote Färbung, die Pylorusgegend erscheint rotbraun und fleckig gerötet. Zuweilen sind die Blutungsherde in der Schleimhaut durch einen schleimigen sepiafarbigen Belag verdeckt.

Der Darm, stark kontrahiert, zeigt meist schon äußerlich

*) Anmerkung. Das von Säger dargestellte Ag.-Sapotoxin sollte nach der Untersuchung von Filehne toxische Wirkungen nicht entfalten. Wir prüften die uns von Herrn Säger zur Verfügung gestellten geringen Mengen von Ag. Sapotoxin am Blut und subkutan an Meerschweinchen. Das Präparat wirkte noch in einer Verdünnung von 1:12500 haemolytisch und tötete in einer Menge von 30 mg p. kg Meerschweinchen.

starke Injektion der Gefäße. Die Schleimhaut des Dünndarms bedeckt oft in seiner ganzen Länge eine klebrige, schleimige, graurötliche, auch sepiafarbige Masse. Die Schleimhaut ist verquollen und zeigt verstreute schwarzrote kleinere Blutungspunkte, Blutungsfleckchen oder Streifen. Auch im Dickdarm wurden wiederholt verstreute kleinere Blutungspunkte und Blutungsfleckchen angetroffen.

Die Mesenterialdrüsen sind meistens sehr vergrößert und stark hyperämisch.

Die Nieren ließen vielfach Mark- und Rindensubstanz undeutlich abgegrenzt, die Marks substanz rotbraun erscheinen.

In der Harnblase fanden sich oft streifige Hämorrhagien vor.

Die Milz zeigte öfters Schwellung und stecknadelkopfgroße zahlreiche dunkelrot gefärbte Blutungspunkte.

Am Herzen fiel in einigen Fällen die übermäßig starke Füllung der Koronargefäße auf. Der Inhalt des Herzens bestand aus flüssigem, oft lackfarbigem Blut. Meistenteils konnten an der Basis der Klappen der linken Herzkammer Blutungspunkte wahrgenommen werden.

Agrostemma-Sapogenin.

Kruskal¹⁾ hat das von ihm dargestellte Ag.-Sapogenin, soweit ich unterrichtet bin, nicht weiter auf seine Wirkungsweise untersucht. Nachdem es uns gelungen ist, nicht nur das Ag.-Sapogenin, sondern auch dessen Kalium- und Natriumsalz in sehr schönen einheitlichen Kristallen zu erhalten, so lag es nahe, diese Präparate, obgleich die Sapogenine im allgemeinen als ungiftig gelten, hinsichtlich ihrer Wirksamkeit zu prüfen.

Zu den nachfolgenden Versuchen benutzten wir wiederholt umkristallisiertes Sapogenin, das mit Hilfe von kohlensaurem Natron in Lösung gebracht wurde.

Wirkung auf Blut.

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie beim Ag.-Sapotoxin.

Versuch. 14.	Meerschweinchenblut.	T. 18°.
Sapogenin (mg)	vollständige Lösung in Min.	Verdünnungsgrad.
10	2	2500
5	20	5000
1	—	—

1) Kruskal, Arbeiten aus dem Pharm. Institut zu Dorpat, Bd. VI, S. 113.

Versuch 15.	Rinderblut.		T. 18°.
Sapogenin (mg)	Teilweise	Vollständige	Verdünnungsgrad.
	Lösung in Minuten.		
10		sofort	2 500
5		10	5 000
1	120	240	25 000

Aus den vorstehenden Versuchsprotokollen ist ersichtlich, daß auch dem Sapogenin noch eine ganz beträchtliche hämolytische Wirkung zukommt. Während das Ag.-Sapotoxin Meerschweinchenblut sehr leicht veränderte, konnte (nach den Resultaten vieler Versuche) in den Verdünnungen über 5000 selbst nach zwölfstündiger und längerer Dauer ein Einfluß nicht mehr beobachtet werden. Auf Rinderblut wirkt das Ag.-Sapotoxin in einer Verdünnung von 1 : 5000 sofort, beim Sapogenin ist bereits in der gleichen Verdünnung eine Verzögerung zu verzeichnen. In der Verdünnung von 1 : 25 000 wirkt Sapogenin erst nach 4 Stunden, in stärkerer Verdünnung gar nicht mehr.

Sapogeninlösungen (auch Lösungen des Natriumsalzes) zeigten nach längerer Zeit (über 24 Stunden) eine Einbuße an ihrer hämolytischen Kraft, insofern als sie dann in einer Verdünnung über 2500 nicht mehr wirkten. Derartige Lösungen hatten aber ihre Giftigkeit z. B. Fröschen gegenüber nicht verloren.

Versuche an Fröschen.

Das Ag.-Sapogenin erzeugt bei Fröschen nach subkutaner Injektion die gleichen Vergiftungserscheinungen wie das Ag.-Sapotoxin bei der gleichen Gabengröße. Zeitweise hatte es den Anschein, als ob das Sapogenin, wenigstens in den ersten Vergiftungsstadien, sogar rascher wirkte.

Versuch 16. Frosch.

2h 4' in den Rückenlymphsack 25 mg Sapogenin in einprozentiger Lösung.
 2h 7' erträgt die Rückenlage; Respiration setzt zeitweise aus.
 2h 25' Resp. beschleunigt, unregelmäßig.
 2h 35' Respiration zeitweise aussetzend. Herzpuls. 52.
 2h 45' " " " " 42.
 2h 15' " " " " 40.
 3h 25' " sehr oberflächlich; Cornealreflexe schwach, Herzpuls. 18.
 3h 45' " erloschen, Herzpuls. 14, sehr unregelmäßig, schwache Kammersystole.

- 4h Respiration kaum mehr sichtbar, Herzpuls. 10 (sehr schwach, aussetzend).
 4h 30' Herz im Diastole still (auf mechanischen Reiz nicht mehr erregbar).

Faradische Reizung:	Muskel.		Nerv.
4h 45'	37	R. A	32
5h 15'	30	=	30
6h 15'	15	=	25
7h 15'	8	=	20
9h	0	=	0

Versuch 17. Frosch.

- 2h 6' in den Rückenlymphsack 20 mg Sapogenin in einprozentiger Lösung.
 2h 10' erträgt die Rückenlage, auf Kneipen wendet er sich um; Respiration aussetzend.
 2h 30' Respiration beschleunigt, aussetzend; reagiert auf Kneipen nicht.
 2h 50' = längere Zeit aussetzend, Cornealreflex schwach.
 3h Herzpuls. 15.
 3h 20' Respiration erloschen. Reflexlos. Herzpuls. 12.
 3h 30' Herzpuls. 12, sehr unregelmäßig.
 4h 15' Vorkammer kontrahiert sich stärker als Kammer.
 4h 20' die Herzkontraktion kaum sichtbar.
 5h Herzstillstand in Diastole.

Faradische Reizung:	Muskel.		Nerv.
5h 15'	32	R. A.	37
6h	28	=	37
6h 30'	15	=	29
7h 30'	11	=	14

Gleich dem Ag.-Sapotoxin bewirkt das Ag.-Sapogenin schon in sehr geringen Mengen lokale Anästhesie, wie nachfolgende Versuche am Reflexfrosch zeigen.

Versuch 18.

Die Zuckung erfolgt an beiden Hintenbeinen nach drei Metronomschlägen. Injektion von 2 mg Sapogenin in einprozentiger Lösung unter die Haut des linken Wadenmuskels.

Linkes Bein.				Rechtes Bein.			
4h	nach 8	Schlägen		4h	nach 2	Schlägen.	
4h 5'	=	110	=		=	2	=
4h 10'	=	210	= nicht		=	2	=
5h	selbst durch starke Induktionsströme nicht erregbar.						

Versuch 19.

Die Zuckung erfolgt an beiden Hinterbeinen nach zwei Metronomschlägen. Injektion von 1 mg Sapogenin in einprozentiger Lösung unter die Haut des linken Wadenmuskels.

Linkes Bein.				Rechtes Bein.			
4h 20'	nach 6	Schlägen		nach 2	Schlägen		
4h 25'	= 4	=		= 2	=		
4h 30'	= 8	=		= 2	=		
4h 35'	= 200	= nicht		= 3	=		
4h 40'	stärkere Induktionsströme						
	schwache Zuckung.						

Wirkung auf den Muskel.

Der *Musc. gastrocnemius* kontrahiert sich in einprozentiger Sapogeninkochsalzlösung sofort sehr stark, die Erregbarkeit für Induktionsströme geht in sehr kurzer Zeit verloren. 0,5 prozentige Lösungen machten den *Musc. sartorius* in 10 Minuten, 0,25 prozentige nach 30 Minuten unerregbar.

Bei der Behandlung des Nervenmuskelpräparates (*ischiadicus* und *gastrocnemius* in der gleichen Anordnung wie beim Ag.-Sapotoxin) mit einprozentiger Sapogeninlösung bewegen sich nach kurzer Zeit die Zehenglieder, und die einzelnen Muskelbündel zeigen lebhaftige Zuckungen. Die Erregbarkeit der Nerven sinkt an der eingetauchten Stelle schon nach 5 Minuten sehr bedeutend (R. A. 42 auf R. A. 24), nach 2 Stunden zuckt der Muskel bei R. A. 10, nach 4 Stunden ist die Erregbarkeit völlig erloschen.

Das Ag.-Sapogenin ist demnach geeignet, in noch beträchtlicher Verdünnung in Muskeln und Nerven die Erregbarkeit herabzusetzen beziehungsweise aufzuheben.

Wirkung auf Säugetiere.

Wirkung bei intravenöser Injektion.

Kaninchen zeigten nach der Einverleibung von Sapogenin in Mengen von 20 mg p. kg keinerlei Erscheinungen, nach Gaben von 40 mg p. kg erfolgte 3—4 Tage lang Nahrungsverweigerung und dann wieder Erholung; Dosen von 60 mg p. kg führten den Tod herbei unter den Erscheinungen, wie sie für das Ag.-Sapotoxin beobachtet

wurden. Nahrungsverweigerung, Aufnahme von größeren Wassermengen, Ansteigen der Temperatur waren für die ersten 12—18 Stunden die regelmäßigsten Erscheinungen. Sodann beginnt die Respiration an Frequenz abzunehmen, die Temperatur sinkt unter die Norm. Aus dem Wiederaansteigen der Temperatur konnte in mehreren Fällen schon am zweiten Tage Wiedererholung mit Sicherheit angenommen werden. Die zentralen Lähmungserscheinungen stellten sich oft unerwartet rasch ein. Nach einem oft länger dauernden komatösen Zustand erfolgte unter Streckkrämpfen der Tod durch Respirationslähmung.

Bei Hunden stellte sich nach Gaben von 30 mg p. kg meist 1 1/2 Stunden nach der Injektion heftiges Erbrechen ein, das sich in der Folge sehr häufig, noch später (besonders nach Aufnahme von Wasser) in größeren Zwischenräumen wiederholte. Der abgesetzte Kot zeigte bereits 16 Stunden nach Injektion Beimischung von blutigem Schleim. Die Respiration nahm in der Regel an Frequenz zu, die anfangs etwas erhöhte Temperatur sank bedeutend herab, zeitweise wurde fibrilläres Zucken verschiedener Muskelgruppen beobachtet. Nach 3 1/2 Tagen nahmen die Tiere wieder allmählich Nahrung auf und erholten sich. Nach Einverleibung von Sapogenin in Gaben von 40 mg p. kg folgten auf die erwähnten Erscheinungen etwa 12 Stunden nach der Injektion starke fibrilläre Zuckungen der Muskeln, welchen in verschieden langen Zwischenräumen klonische Krämpfe besonders der Hals-, Kiefer- und Rückenmuskulatur sich anreihen. Nach diesem oft mehrere Stunden anhaltenden Reizungsstadium trat eine etwa 2—3 stündige Erholungspause ein. Die Temperatur, welche bis 42,1 angestiegen war, zeigte wieder normale Höhe 38,5, desgleichen erreichte die vorher sehr frequente Respiration wieder die frühere Zahl.

Nachdem neuerdings Würgebewegungen und wiederholte leichtere Anfälle von Trismus sich eingestellt, treten jetzt die zentralen Lähmungserscheinungen in den Vordergrund. Das Tier reagiert noch kurze Zeit auf Anruf, ist aber infolge Parese der Hinterbeine nicht mehr imstande, zu folgen und verfällt allmählich in einen komatösen Zustand. Die Temperatur sinkt beständig. Im übrigen zeigten Respiration und Herztätigkeit die gleichen Erscheinungen, wie sie bereits für das Ag-Sapotoxin beschrieben sind.

Die Sektionsbefunde ergaben in allen Fällen vollkommene Übereinstimmung mit den Befunden nach Vergiftungen mit Ag-Sapotoxin.

Versuch 20.

Hund 4600 g erhält 84 mg Sapogenin, p. kg 40 mg in die Vena jugularis. Resp. 22. Puls 72. Temp. 38,7 (im Rektum gemessen).

24. X. 05. 11h

Injektion.

1h 30'—11h abends in größeren Zwischenräumen Würgbewegungen, Erbrechen, Verweigerung der Nahrung, Aufnahme von viel Wasser. T. 37,6. P. 76.

25. X. 05. 12h nachts—1h 40' fibrilläre Zuckungen verschiedener Muskeln, klonische Krämpfe der Kiefer-, Hals- und Rückenmuskeln. Resp. sehr beschleunigt, keuchend, Sensorium erhalten. Temp. steigt bis 42,1.

1h 40'—3h 50' die Krämpfe werden weniger häufig, zuweilen besteht nur Trismus. Respiration wird allmählich ruhig, 36. P. 80. T. sinkt langsam auf 38,5; Kot ist mit blutigem Schleim vermischt.

4h morgens—5h abends ganz vereinzelte schwache Krämpfe, leichter Trismus, Gang unsicher, Wasser wird stets erbrochen. P. 84. R. 30. T. 37,7.

5h—12h nachts Parese der hinteren Extremitäten. Resp. abwechselnd, nimmt an Frequenz zu (50), Puls unregelmäßig, nimmt an Frequenz ab, 60. Sensorium erhalten.

26. X. 05. 2h 30' morgens liegt auf der Seite, reagiert auf mechanischen Reiz sehr schwach. Cornealreflex schwach. Resp. 16, aussetzend. P. 50. T. 35,8.

5h = starker Tremor, Cornealreflex erloschen. R. aussetzend, sehr oberflächlich, P. unregelmäßig, schwach. T. 35,1.

5h 50' = leichte Krämpfe. Respiationsstillstand, das Herz steht kurze Zeit nachher still.

7h = vollkommene Totenstarre.

Sektionsbefund.

Die Magenschleimhaut stark verquollen, zeigt ausgedehnte dunkelrot gefärbte Hämorrhagien; der Dünndarm läßt in seiner

ganzen Länge verschieden große Blutungspunkte und Blutungsherde erkennen. Desgleichen finden sich im Dickdarm vereinzelte Blutungsherde. Mesenterialdrüsen sehr stark geschwellt.

Versuch. 21.

Kaninchen 1900 g erhält 152 mg Sapogenin, 80 mg p. kg in die Vena jugularis. T. 39,2.

11. VIII. 05. 10h 30'	Injektion.
3h 30'	nimmt keine Nahrung auf, viel Wasser; der Harn enthält Blutfarbstoff.
6h	R. sehr beschleunigt. T. 40,0.
12. VIII. 05. 12h mittags	liegt auf der Seite, reagiert auf mechanischen Reiz schwach. Resp. 40, aussetzend. T. 34,4. Puls schwach.
2h 30'	einige stärkere Streckkrämpfe. Respirationsstillstand. Herz schlägt noch schwach.

Sektionsbefund.

Darm größtenteils leer. Mesenterialgefäße sehr stark gefüllt, desgleichen die Gefäße des Dickdarms. Der Magen zeigt äußerlich schon auf der Innenseite liegende rote Punkte. Die Magenschleimhaut zeigt zahlreiche, zum Teil zusammenfließende Blutungsherde, zum Teil mit diphtheritischem Belag. Unter der Schleimhaut der Trachea und der größeren Bronchien diffuse Blutungen. In der linken Herzkammer an der Klappengrenze zahlreiche kleinere Blutungspunkte. Nierenoberfläche stark hyperämisch, auf dem Durchschnitt sind Rinden- und Marksubstanz verschwommen und zeigen mehrere dunkelrote hämorrhagische Infarkte. Am linken Psoas minor befindet sich ein nußgroßer Blutungsherd.

Wirkung nach subkutaner Injektion.

Die subkutane Applikation von Ag.-Sapogenin ist ebenso schmerzhaft wie die von Ag.-Sapotoxin. Die Ödembildung erfolgt in ungeheurer Ausdehnung — auch schon wegen der größeren Mengen, welche injiziert werden müssen. Dieser Umstand war Veranlassung, die Versuche nicht weiter auszudehnen.

Bei einem Kaninchen wirkten 200 mg p. kg in 31 Stunden tödlich. Der Verlauf der Vergiftung war der gleiche wie beim Ag.-Sapotoxin.

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich, daß das Ag.-Sapogenin die gleichen Vergiftungserscheinungen hervorrufen kann

wie das Ag.-Sapotoxin. Zum Zustandekommen der Sapogeninwirkung sind nur größere Mengen erforderlich. Es scheint demnach für das Ag.-Sapotoxin und das Ag.-Sapogenin ein ähnliches Verhältnis zu bestehen wie für Solanin und Solanidin. Nachdem das Ag.-Sapotoxin in seinen Wirkungen enge an das Quillajasapotoxin sich anschließt, ist zu vermuten, daß auch das Quillajasapogenin nicht ungiftig ist.

Die Versuche über die Wirkung des Ag.-Sapotoxins und des Ag.-Sapogenins bei Einfuhr in den Magen sind noch nicht abgeschlossen. Im Anschlusse hieran sollen dann auch die Derivate des Ag.-Sapogenins geprüft werden.