XXII.

Ueber den giftigen Bestandtheil der essbaren Morchel (*Helvella esculenta*).

Von

R. Boehm und E. Külz.

Durch die Beobachtungen und Versuche von Boström¹⁾ und Ponfick²⁾ wurde dargethan, dass die essbare Morchel im frischen Zustande eine eigenthümliche Giftwirkung auf den Menschen und auf gewisse Säugethiere ausübt.

Die Pathologie und Symptomatologie dieser Intoxicationsform ist ebenso wie die Geschichte und Literatur derselben von den genannten Autoren in eingehender Weise behandelt worden. In chemischer Hinsicht ergibt sich aber aus ihren experimentellen Untersuchungen lediglich die Thatsache, dass der giftige Bestandtheil von *Helvella esculenta* ein sehr wenig beständiger — entweder flüchtiger oder sehr leicht zersetzlicher Körper ist, welcher durch Kochen mit Wasser frischen Morcheln nahezu vollständig entzogen werden kann, weniger reichlich aber von kaltem Wasser aufgenommen wird.

Wir haben es versucht, das Morchelgift zu isoliren und über seine chemischen Eigenschaften nähere Aufschlüsse zu gewinnen. Die Ergebnisse unserer auf dieses Ziel gerichteten Untersuchungen sollen in aller Kürze im Nachstehenden mitgetheilt werden.

Als Material dienten uns frische Morcheln, von welchen wir im Mai 1883 ca. 20 kg, im April 1884 gegen 50 kg in vorzüglicher Qualität durch die Vermittelung des Hauses Gehe und Comp. in Dresden aus Frankfurt a. d. Oder in zahlreiche kleine Körbe verpackt erhielten.

Eine Reihe von Vorversuchen, durch welche wir die Wirksamkeit des vorliegenden Arbeitsmaterials feststellten und das Krank-

1) Deutsches Archiv f. klin. Medicin. XXXII. Bd. S. 209.

2) Virchow's Archiv. LXXXVIII. Bd. S. 445.

heitsbild der Morchelvergiftung in seinen verschiedenen Intensitätsgraden aus eigener Anschauung kennen lernten, kann hier übergangen werden, weil sie der Beobachtung nichts darboten, was nicht schon durch die Veröffentlichungen von Boström und Ponfick bekannt gewesen wäre. Nur die Thatsache verdient vielleicht Erwähnung, dass, wie zwei unserer Versuche lehrten, auch auf Kaninchen das Morcheldecoct toxisch wirkt. Zwei Kaninchen von 1270 g (I) und 1200 g (II) Körpergewicht erhielten in 4 Portionen zu je 100 cem im Laufe von 4 Stunden das Decoct von je 100 g frischem Morcheln per os. Bis zum Abend war der Harn noch nicht bluthaltig. Am nächsten Morgen wurde Kaninchen I todt gefunden, Kaninchen II starb früh 7 Uhr. Der Harn beider Thiere war roth gefärbt und enthielt Hämoglobin.

Dagegen erscheint es geboten, über diejenigen unserer Versuche zu berichten, welche uns zu dem schliesslich eingeschlagenen Isolirungsverfahren des Morchelgiftes führten.

Da die durch Auskochen frischer Morcheln mit Wasser erhaltenen Decocte unstreitig am raschesten und stärksten giftig wirken, so versuchten wir im Anfange unserer Untersuchungen zunächst die Frage zu entscheiden, ob der giftige Körper aus dem wässrigen Decocte durch neutrales resp. basisches Bleiacetat gefällt wird oder nicht. Diese Versuche konnten ohne Anwendung von Hitze und in verhältnissmässig kurzer Zeit — im Laufe von 24—48 Stunden ausgeführt werden. 1000 g Decoct aus 300 g frischer Morcheln wurden zuerst mit neutralem Bleiacetat, das Filtrat von dem hierbei erhaltenen Niederschlag alsdann mit Bleiessig gefällt, die Niederschläge sorgfältig ausgewaschen und die gesammelten Filtrate und Waschwässer der Bleiessigfällung durch Schwefelwasserstoff von überschüssigem Blei befreit. Der Schwefelwasserstoff wurde aus dem Filtrate des Schwefelbleies durch einen lebhaften Kohlensäurestrom entfernt.

Der Bleizucker- und Bleiessigniederschlag wurden gesondert in Wasser vertheilt, durch Schwefelwasserstoff zerlegt und aus den vom Schwefelblei abfiltrirten Lösungen ebenfalls der Schwefelwasserstoff durch den Kohlensäurestrom beseitigt.

Die auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeiten wurden zu 3 Thierversuchen verwendet.

Versuch 1.

23. Mai 1883 10 h. 45 m. Ein mittelgrosser schwarzer Schäferhund erhält per Schlundsonde das von Blei- und Schwefelwasserstoff befreite Filtrat der Bleiniederschläge (entsprechend 300 g frischer Morcheln). Die

Flüssigkeit betrug 1000 ccm und hatte 48 Stunden an einem kühlen Orte gestanden.

11 h. 45 m. Das Thier hat bis jetzt nicht erbrochen; ca. 100 ccm schwach alkalisch reagirenden hellgelben Harns entleert. Bis zum Abend des 23. Mai kein Erbrechen und auch sonst nichts Abnormes.

24. Mai 1883 Morgens 6 h. 30 m. Während der Nacht hat das Thier mehrmals erbrochen und ca. 150 ccm dunkelblutrothen Harns entleert. Das Futter wird nicht berührt und im Verlaufe des Tages und der darauffolgenden Nacht noch wiederholt blutrother Harn entleert.

Am 26. Mai ist der Harn wieder normal und das Thier vollkommen genesen.

Versuch 2.

22. Mai 1883 Abends 7 h. Eine kleiner Dachshund erhält per Schlundsonde die Flüssigkeit aus dem Bleizuckerniederschlage (entsprechend 300 g frischer Morcheln).

Sofort nach der Injection Brechbewegungen, durch welche ca. $\frac{1}{4}$ der injicirten Flüssigkeit wieder entleert wurde.

Bis zum 25. Mai keine Wirkung.

Versuch 3.

22. Mai 1883 12 h. 45 m. Ein mittelgrosser Hund erhält per Schlundsonde die Flüssigkeit aus dem Bleiessigniederschlage.

Bis zum 26. Mai keine Wirkung.

Da Versuch 2 infolge des unmittelbar nach der Injection auftretenden Erbrechens nicht ganz einwurfsfrei war, so wurde noch ein weiterer mit dem Bleizuckerniederschlage des Decoctes von 600 g frischer Morcheln angestellt.

Versuch 4.

26. Mai 1883. Ein mittelgrosser schwarzer Hund erhält Morgens 7 h 45 m. die Flüssigkeit aus dem Bleizuckerniederschlage des Decoctes von 600 g frischer Morcheln.

27. Mai Morgens. Das Thier frisst nicht mehr. Um 10 h. mittelst Katheter entleerter Harn enthält grosse Mengen schwarzbraunen Sedimentes, welches sich unter dem Mikroskope als aus Hämoglobintropfen bestehend erweist.

3 h. Dunkelrothbrauner Harn entleert.

28. Mai. Nur noch schwache Hämoglobinurie.

Die vorstehenden Versuche zeigen, dass das Morchelgift zum grösseren Theile aus wässriger Lösung durch neutrales und basisches Bleiacetat nicht gefällt wird. Denn die Vergiftungserscheinungen, welche der Hund von Versuch 1 nach Application des durch die doppelte Bleifällung gereinigten Decoctes von 300 g frischer Morcheln darbot, waren unverkennbar intensiver, als diejenigen, welche der kleinere Hund des 4. Versuches zeigte, trotzdem er die Flüssig-

keit aus dem Bleizuckerniederschlage der doppelten Morchelmenge (600 g) erhalten hatte.

Auf der anderen Seite liefert aber Versuch 4 den sicheren Nachweis dafür, dass das Gift durch Bleizucker aus wässriger Lösung nicht vollständig ausgefällt werden kann.

Alle unsere Versuche, durch irgend ein Fällungsmittel den wirksamen Körper aus dem durch Bleifällung gereinigten Decocte abzuscheiden, ergaben negative Resultate, weshalb sie hier übergangen werden können. Ein basischer Körper, welcher durch sehr deutliche Alkaloidreactionen in dem gereinigten Decocte sich zu erkennen gab, erwies sich als Cholin, welches wir nachträglich aus dem alkoholischen Morchelextracte in grösseren Mengen darstellen konnten.

Für den weiteren Fortgang unserer Untersuchungen war nunmehr die Beantwortung der Frage entscheidend, ob in der That, wie Boström und Ponfick angeben, die Giftigkeit der Morcheldecocte durch Eindampfen bis zur Extractdicke vollkommen verloren geht. Schon der erste in diesem Sinne angestellte Versuch ergab, dass dies wenigstens für das mit Blei gereinigte Morcheldecoct durchaus nicht zutreffend ist.

1 Liter des durch Bleifällung gereinigten Decoctes, entsprechend 300 g frischer Morcheln, wurde mittelst Calciumcarbonat auf dem Wasserbade neutralisirt, filtrirt und hierauf auf dem Wasserbade zur Syrupsdicke eingedampft. Die von den krystallinisch abgeschiedenen Kalksalzen abgegossene Mutterlauge diente zu Versuch 5.

Versuch 5.

Ein mittelgrosser grauer Hund erhält den 26. Mai 1883 12 h. 30 m. die in Wasser aufgelöste Mutterlauge per Schlundsonde.

27. Mai. Das Thier hat während der Nacht mehrmals erbrochen, ist sehr traurig und frisst nicht mehr. Ca. 100 ccm dunkelblutrothen Harns entleert.

11 h. 6 m. Das Thier hat wieder farblosen Schleim erbrochen. Conjunctivae leicht ikterisch.

28. Mai Morgens. Während der Nacht wurden ca. 500 ccm dunkelblutrothen Harns entleert. Schwäche in den Extremitäten. Conjunctivae deutlich ikterisch.

8 h. Abends. Abermals dunkelblutrothen Harn entleert. Das Thier ist noch sehr traurig und frisst nicht.

29. Mai Morgens. Während der Nacht wurde wieder dunkelblutrother Harn entleert. Das Thier ist heute etwas munterer und säuft Milch.

30. Mai. Seit gestern wurde kein Harn entleert. Das immer noch matte Thier säuft wohl Milch, verweigert aber die Aufnahme fester Nahrung.

31. Mai Morgens 6 Uhr wird der Hund todt gefunden.

Die um 10 Uhr vorgenommene Section ergab in beiden Nieren die von Boström und Ponfick beschriebenen charakteristischen Befunde.

Bei dem vorstehenden Versuche war das durch Blei gereinigte wässrige Decoct bei neutraler Reaction eingedampft worden. Weitere Versuche zeigten indessen, dass auch bei saurer oder alkalischer Reaction die Giftigkeit nicht verloren geht. Ob dies auch für die nicht mit Blei gereinigten Decocte zutreffend ist, haben wir nicht untersucht.

War nun auch durch die zuletzt mitgetheilten Versuche die werthvolle Aussicht gewonnen, aus dem Rohmaterial gewonnene Extracte zur weiteren Isolirung des Giftes verwenden zu können, so mussten wir doch alsbald zu der Einsicht gelangen, dass zum Zwecke der Darstellung des Morchelgiftes in etwas grösserem Maassstabe das Verfahren der Extraction mit kochendem Wasser wenig zweckmässig ist.

Schon das Auskochen grösserer Quantitäten frischer Pilze mit Wasser in kurzer Zeit erweist sich bei den gewöhnlichen Laboratoriumseinrichtungen als kaum ausführbar. Aehnliche Schwierigkeiten würde die Bleifällung, resp. Entbleiung grosser Flüssigkeitsvolumina darbieten und das Eindampfen vieler Kilogramme wässriger Flüssigkeit musste schon wegen des grossen Zeitverlustes und der dabei immerhin noch sehr naheliegenden Möglichkeit von Zersetzungen als sehr unzweckmässig erscheinen.

Weitere Vorversuche mit kleineren Mengen Materials lehrten uns, dass man auch durch Maceration frischer Morcheln mit Spiritus und Eindampfen der Macerationstinctur sehr wirksame Extracte erhält und dass sich bei dieser Art der Behandlung die Bleifällung ohne Nachtheil umgehen lässt. Auch stellte es sich heraus, dass es durchaus nicht nöthig ist, die alkoholische Tinctur vor dem Eindampfen zu neutralisiren; wir erhielten wirksame Extracte auch durch Einengen der ursprünglichen, stets sehr stark sauer reagirenden Morcheltinctur.

Nachdem sich ferner herausgestellt hatte, dass man dem alkoholischen Extracte den wirksamen Bestandtheil zum grossen Theil durch Aether entziehen kann, schlugen wir schliesslich zur Verarbeitung grösserer Quantitäten frischer Pilze das folgende Verfahren ein.

Die frischen Morcheln wurden sofort nach dem Eintreffen in einer Fleischhackmaschine gemahlen, wodurch sie sich in einen gröblichen Brei verwandeln lassen. Dieser wurde in geeigneten grossen Gefässen innig mit der doppelten Gewichtsmenge absoluten Wein-

geistes gemischt, hierauf in Schwefelsäureballons gebracht und in diesen während 2—3 Tagen häufig energisch durchgeschüttelt. Es resultirt hierbei infolge des hohen Wassergehaltes der frischen Pilze ein Gemenge, das 65—70 Volumproc. Weingeist enthält und worin tiefergreifende Zersetzungen der Morchelbestandtheile nicht mehr zu befürchten waren. Nach 2—3tägiger Maceration wurde der Weingeist von dem Morchelbrei abgossen, letzterer in der Pflanzenpresse möglichst vollständig ausgepresst, die Pressflüssigkeiten mit der abgossenen Tinctur vereinigt und colirt.

Um jede Zersetzung nach Möglichkeit zu vermeiden, destillirten wir von den so erhaltenen grossen Mengen der alkoholischen Morcheltinctur den Weingeist im Vacuumapparat bei einer 60° C. nicht übersteigenden Temperatur ab. Im Laufe eines Tages konnten jedesmal in maximo 10 Liter der alkoholischen Tinctur im Vacuum vom Alkohol befreit werden. Die wässrigen Rückstände von je 10 Litern der Tinctur übergossen wir sofort nach Beendigung der Destillation mit dem 6—8fachen Volumen Aether und liessen nun während eines Tages ausschütteln. Da Versuche im Kleinen ergeben hatten, dass nach 2 maliger Ausschüttelung mit 6—8 Vol. Aether die wässrige Flüssigkeit keine nennenswerthen Giftmengen mehr enthält, wurde jede Portion nur 2 mal ausgeschüttelt. Von den ätherischen Schütteltincturen zogen wir den Aether durch Destillation im Wasserstoffstrom ab und benutzten selbstverständlich das Destillat alsbald zu weiteren Ausschüttelungen. Es gelang uns in dieser Weise den Destillationsrückstand von 1,5 Hektolitern Morcheltinctur im Laufe von 20 Tagen vollständig aufzuarbeiten.

Der Rückstand der ätherischen Schütteltincturen stellte einen dünnen grünlichbraun gefärbten, sehr fettreichen Syrup dar, von welchem wir im Jahre 1883 aus 15 kg Morcheln 35,0 g, im Jahre 1884 aus nahezu 50 kg 209,0 g erhielten.

Die Ausbeute des ersten Jahres wurde bis auf einen geringen als Controlpräparat aufbewahrten Rest bei den folgenden, zur Orientirung dienenden Versuchen aufgebraucht.

Die 35,0 g betragende Masse hatte nach längerem Stehen über Schwefelsäure reichliche Mengen von Krystallen abgesetzt und roch sehr intensiv nach Morcheln.

Versuch 6.

21. October 1883. Ein Hund von 3130 g Körpergewicht erhielt 12 h. 30 m. per os 4,0 g obiger Substanz.

Bis 5 h. Nachmittags desselben Tages wurde kein Harn entleert; doch erscheint der Hund etwas weniger munter als vorher.

22. October Morgens 226 ccm stark blutroth gefärbten Harns vorgefunden. Fresslust vermindert. 5 h. 45 m. wieder 86 ccm blutigen Harns.

23. October Morgens 224 ccm blutrothen Harns vorgefunden.
2 h. Nachmittags. Das Thier entleert nochmals 200 ccm blutigen Harns, frisst aber bereits wieder mit Gier Pferdefleisch.

24. October. Harn noch schwach bluthaltig.

25. October. Harn normal.

Es lag nunmehr am nächsten, aus dem ein sehr fettreiches Gemenge darstellenden ätherischen Extracte den Giftstoff durch Behandlung mit heissem Wasser weiter zu isoliren. Der folgende Versuch ergab, dass dieses Verfahren dem Ziele näher führt.

Versuch 7.

Weitere 4,0 g des ätherischen Extractes wurden mit 50 ccm Wasser 7 Minuten lang auf stark kochendem Wasserbade erhitzt. Die gelblichen Krystalle zerflossen; auf der Oberfläche des Wassers schied sich bräunliches Oel ab, das beim Filtriren auf dem Filter haften blieb. Diese fettige Masse wurde nochmals in der gleichen Weise mit 50 ccm Wasser erhitzt.

Die vereinigten wässrigen Filtrate erhält der Hund von Versuch 6 (3130 g) schwer) am 25. October 1883 1 h. 15 m. per Schlundsonde.

3 h. 15 m. Erbrechen von Fleisch und etwas Flüssigkeit.

5 h. 40 m. Es werden bereits 60 ccm blutigen Harns entleert. Der Hund ist sehr traurig.

26. October 1883. Früh 70 ccm stark blutig gefärbter Harn; keine Fresslust.

10 h. 30 m. Das Thier winselt und lässt den Kopf schlaff hängen.

11 h. 5 m. Tod. Kurz zuvor wurde noch etwas blutiger Harn gelassen.

Versuch 8.

26. October 1883. Ein Hund von 3980 g Körpergewicht erhält per os den in heissem Wasser unlöslichen fettigen, nunmehr krystallinisch erstarrten Rückstand obiger 4,0 g des ätherischen Extractes. Bis zum 29. October keine Wirkung. Das Thier lässt völlig klaren normalen Harn.

Versuch 7 stellt es ausser Zweifel, dass der giftige Bestandtheil aus dem ätherischen Extracte durch heisses Wasser ausgezogen werden kann und lehrt, dass eine in solcher Weise frisch bereitete wässrige Lösung des Giftes viel rascher und intensiver wirkt, als das mit Fett und anderen unbekannten Substanzen verunreinigte ätherische Extract. Der noch vorhandene Rest von 26,0 g des ätherischen Extractes wurde nun zunächst mit einer geringen Menge von 15 ccm Wasser 2 Minuten lang auf dem Wasserbade erhitzt. Das rothbraune wässrige Filtrat wurde im Vacuum über Schwefelsäure eingeeengt, wobei schliesslich 1,80 g Rückstand hinterblieben. Eine

zweite Extraction des auf dem Filter gebliebenen Fettes mit 30 ccm heissen Wassers ergab in gleicher Weise noch 0,6 g, eine dritte Extraction noch 0,3 g Rückstand. Nach dieser 3 maligen Behandlung mit heissem Wasser wirkte die fettige Masse auch zu 5,0 g nicht mehr giftig.

Die 3 erhaltenen Rückstände zeigten übereinstimmende Eigenschaften, reagirten stark sauer, reducirten alkalische Kupferoxydlösung beim Erhitzen, erwiesen sich als stickstoffhaltig und enthielten nur Spuren von Aschenbestandtheilen. Irgendwelche charakteristische Reactionen mit Eisenchlorid (Phenol), Jod u. s. w. konnten nicht beobachtet werden.

Versuch 9.

6. November 1883. Ein Hund von 3980 g Körpergewicht erhält um 12 h. 45 m. 0,22 g des 1,8 g betragenden ersten Rückstandes der Behandlung mit heissem Wasser per os.

4 h. 15 m. 45 ccm hellgelber blutfreier Harn.

9 h. Abends 40 ccm dunkelbraunrother blutiger Harn.

10 h. 50 m. 50 ccm sehr stark blutig gefärbter Harn.

7. November 1883. 6 h. 15 m. früh 75 ccm stark blutiger Harn.

Das Befinden des Thieres erscheint verschlechtert. Fresslust vermindert. Im Laufe des Tages wird noch mehrmals stark blutig gefärbter Harn entleert.

8. November 1883. Im Laufe des Tages erholt sich das Thier. Der Harn ist nicht mehr bluthaltig.

Versuch 10.

Derselbe Hund erhält am 8. November Nachmittags 0,1 g des gleichen Präparates per os. Am Morgen des 3. Tages nach der Vergiftung sind im Harn des Thieres bei 100 mm dicker Schichte die Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins bei der spectroscopischen Untersuchung schwach, aber deutlich erkennbar. Stärkere Hämoglobinurie trat in diesem Versuche nicht auf.

Durch die beiden folgenden Versuche sollte ermittelt werden, ob auch bei subcutaner Injection der isolirten Substanz Hämoglobinurie auftritt.

Versuch 11.

3. November 1883. Ein Hund von 3890 g Körpergewicht erhält um 2 h. 56 m. 0,22 g des gleichen Präparates (I) subcutan. (Dasselbe löste sich leicht in heissem Wasser; nach dem Erkalten trat keine Trübung ein.)

8 h. Abends wird normaler Harn entleert.

4. November 1883 Morgens. 135 ccm braungelben Harns. Der Hund ist munter. 1 h. Mittags werden 260 ccm röthlich gefärbten hämoglobinhaltigen Harns entleert; ebenso Abends. Am darauffolgenden Tage keine Hämoglobinurie mehr.

Versuch 12.

7. November 1883. Ein Hund von 5800 g Körpergewicht erhält 1 h. 20 m. 0,4 g der Substanz in Wasser gelöst subcutan. Erst am 2. Tage nach der Vergiftung ist im Harn Hämoglobin in geringer Menge nachweisbar; sonst keine Wirkung.

Bei subcutaner Application sind demnach die Wirkungen des Morchelgiftes beträchtlich geringer. Durch den folgenden Versuch wurde noch festgestellt, dass auch noch der Rückstand der 3. Extraction des ätherischen Extractes mit heissem Wasser (0,3 g) giftig wirkte.

Versuch 13.

19. November 1883. Ein Hund von 3480 g Körpergewicht erhält die ganze Menge der Substanz (0,3 g) um 1 h. Nachmittags per os.

10 h. Abends wurde blutiger Harn entleert.

20. November 1883. Im Laufe des Tages mehrmals Entleerung stark bluthaltigen Harns.

Die Hämoglobinurie dauert in allmählich abnehmender Intensität bis zum 24. November Abends. 3 Tage lang hat das Thier nichts gefressen. Bis zum 24. November ist völlige Genesung eingetreten.

Ein Rest von 0,2 g^g des I. und von 0,47 g des II. wässrigen Extractes war unter einer Glasglocke in einem kühlen Zimmer 1 Jahr lang aufbewahrt worden. Es zeigte sich, dass jetzt von diesen Präparaten 0,2 g gar keine, 0,47 g bei einem 7870 g schweren Hunde nur eine sehr schwache Hämoglobinurie hervorriefen, und es darf hieraus gefolgert werden, dass bei längerer Aufbewahrung eine allmähliche Zersetzung des Giftes stattfindet.

Mit den Erfahrungen der vorstehenden Untersuchungen ausgerüstet, traten wir im Frühjahr 1884 von Neuem an die Bearbeitung des Gegenstandes heran und hatten diesmal die Menge von 50 kg frischer Morcheln zu unserer Verfügung. Wir erhielten daraus nach dem bereits mitgetheilten Isolirungsverfahren 209 g ätherischen Extractes, welches die gleichen Eigenschaften wie das vorjährige darbot und wie dieses in Mengen von 4,0 g die charakteristischen Vergiftungserscheinungen hervorrief.

Der Versuch aber, auch aus diesem Extract durch Digestion mit heissem Wasser die giftige Substanz zu isoliren, missglückte zunächst. 75,0 g des werthvollen Materials gingen dabei verloren. Bei der Digestion mit heissem Wasser entstand eine steife, seifenleimartige Masse, aus welcher in keiner Weise die wässrige Flüssigkeit wieder abgeschieden werden konnte.

Ohne auf die verschiedenen misslungenen Versuche, die wirksame Substanz vom Fett zu trennen, näher einzugehen, beschränken

wir uns darauf, das Verfahren ausführlicher mitzutheilen, durch welches wir schliesslich doch noch zum Ziele gelangten und eine wohl reine Substanz erhielten.

Eine im Vacuum scharf getrocknete Probe des Aetherextractes gab mit ganz absolutem Aether eine starke Trübung. Es wurde daher der ganze noch 118 g betragende Rest des Aetherextractes nach längerem Stehen über Schwefelsäure im Vacuum so lange mit absolutem Aether versetzt, bis keine Trübung mehr entstand. Der hierbei entstandene, nach dem Absetzen abfiltrirte Niederschlag enthielt viel Stickstoff, bewirkte bei einem Hunde wohl Erbrechen und vorübergehende Schwächeerscheinungen, aber keine Spur von Hämoglobinurie. Das ätherische Filtrat, von Aether befreit, hinterliess einen Rückstand, der noch Spuren von Stickstoff aufwies und zu 3,5 ccm deutliche Hämoglobinurie bewirkte. Mit dem vierfachen Volumen absoluten Alkohols versetzt, schied diese Masse noch einen weiteren reichlichen Niederschlag ab, der nach 24 Stunden abfiltrirt und, weil er sich frei von wirksamer Substanz erwies, nicht weiter untersucht wurde.

Nach Abtrennung dieser in absolutem Alkohol und Aether unlöslichen Bestandtheile des ätherischen Extractes konnte nunmehr die Behandlung mit heissem Wasser in der Weise ausgeführt werden, dass der Rückstand des alkoholischen Filtrates in kleinen Portionen auf lebhaft kochendem Wasserbade und unter beständigem Umrühren in die 3fache Menge heissen Wassers eingetragen, etwa 2 Minuten lang erhitzt und dann zusammen mit der wässrigen Flüssigkeit auf ein mit siedendheissem Wasser befeuchtetes Filter gebracht wurde. Aus den vereinigten Filtraten wurden durch Einengen im Vacuum über Schwefelsäure schliesslich nur 0,3 g Substanz (Extract I) erhalten.

Eine zweite Behandlung der öligen, ungelöst gebliebenen Massen mit 150 ccm heissen Wassers ergab noch eine Ausbeute von 0,45 g Substanz (Extract II). Die nach der II. Extraction auf dem Filter gebliebenen Massen wurden in wenig Alkohol gelöst. Wegen des Wassergehaltes bildeten sich 2 Schichten: eine ölige und eine wässrig-alkoholische. Die erstere war unwirksam, die wässrig-alkoholische bewirkte starke Hämoglobinurie. Beide Schichten wurden daher mittelst Scheidetrichters getrennt. Der Rückstand der wässrig-alkoholischen Schichte betrug 1,8 g (Extract III).

Alle 3 Extracte (zusammen 2,55 g), nunmehr vollkommen stickstofffrei und alkalische Kupferoxydlösung nicht mehr reducirend, stellten einen hellgelblichen, durchsichtigen

zählen Syrup von stark saurer Reaction und unbedeutendem Morchelgeruch dar, aus dem sich nach längerem Stehen einige Kryställchen abschieden. Durch reichlichen Aetherzusatz ging allmählich alles in Lösung bis auf die Krystalle, welche anorganischer Natur waren.

Die Rückstände der filtrirten ätherischen Lösungen, abermals mit absolutem Alkohol aufgenommen, zeigten auf Aetherzusatz nochmals Trübungen, welche nach eintägigem Stehen abfiltrirt werden konnten. Nach Entfernung des Aethers wurden die Rückstände über Schwefelsäure und zuletzt über Phosphorsäureanhydrid im Vacuum längere Zeit getrocknet. Unter Färbung der Phosphorsäure fand eine ständige Gewichtsabnahme statt, so dass man an eine Verflüchtigung der Substanz denken musste.

Nachdem nochmals durch 2 Thierversuche die Wirksamkeit der erhaltenen Präparate controlirt worden war (0,16 g von Extract III bewirkten bei einem Hunde von 5270 g Gewicht Hämoglobinurie), wurde die Elementaranalyse von Extract II und III vorgenommen.

Extract II. 0,1943 g ergaben:

$$0,1265 \text{ g H}_2\text{O} = 7,23 \text{ Proc. H}$$

$$0,3696 \text{ g CO}_2 = 51,88 \text{ „ C}$$

Von der Substanz sind 0,0028 g Asche in Abzug gebracht.

Extract III. 0,2291 g ergaben:

$$0,1512 \text{ g H}_2\text{O} = 7,33 \text{ Proc. H}$$

$$0,4368 \text{ g CO}_2 = 52,00 \text{ „ C}$$

Die zurückgebliebene und in Abzug gebrachte Asche betrug 0,0022 g.

Da wir nach allen unseren bisherigen Beobachtungen die wirksame Substanz für eine Säure halten durften, so wurde, um die Ergebnisse obiger Analysen zu stützen und eventuell einen Anhaltspunkt für die Aufstellung einer Formel zu gewinnen, noch der Versuch gemacht, ein Salz darzustellen. Zu dem Zwecke wurden die Reste von Extract II und III vereinigt, in Wasser gelöst und mit chlorfreiem Barythydrat genau neutralisirt. Die Lösung des so gewonnenen Baryumsalzes wurde im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur auf ein kleines Volumen eingeengt. Daraus schied sich auf Zusatz von absolutem Alkohol das Salz in Flocken ab, die nach dem Auswaschen und Trocknen über Phosphorsäureanhydrid zu einem weissen lockeren, amorphen Pulver zerfielen.

0,1615 g Baryumsalz ergaben bei der Analyse:

$$0,0632 \text{ g H}_2\text{O} = 4,35 \text{ Proc. H}$$

$$0,1874 \text{ g CO}_2 = 34,56 \text{ „ C}$$

$$0,0774 \text{ g BaCO}_3 = 33,32 \text{ „ Ba}$$

Daraus berechnet sich die Formel $C_{12} H_{18} BaO_7$

	gefunden	berechnet
H	4,35	4,38
C	34,56	35,04
Ba	33,32	33,33.

Trotz des etwas zu niedrig gefundenen Kohlenstoffgehaltes dürfte die Formel dennoch aufzustellen sein, da die bei der Analyse der freien Säure gefundenen Zahlen sehr gut mit der aus der Analyse des Baryumsalzes abgeleiteten Formel $C_{12} H_{20} O_7$ übereinstimmen;

	gefunden	berechnet
	I.	II.
C	51,88	52,00
H	7,23	7,33
		7,24

Nach diesen Ergebnissen der Analyse erscheint die Annahme berechtigt, dass wir es mit einer einheitlichen chemischen Substanz zu thun hatten, für welche wir bis auf Weiteres den Namen Helvellasäure vorschlagen.

Wenn schliesslich trotz des reichlich angewandten Rohmaterials die Ausbeute an reiner wirksamer Substanz nur eine geringe war, so lag dies hauptsächlich daran, dass das Isolirungsverfahren infolge der Zersetzlichkeit und höchstwahrscheinlich auch der Flüchtigkeit der Substanz mit sehr grossen Verlusten verknüpft sein musste und wir ausserdem gezwungen waren, bei dem Mangel charakteristischer chemischer Reactionen jede einzelne chemische Manipulation erst mittelst des Thierversuches auf ihre Zweckmässigkeit zu prüfen.

Die Mittel für die Ausführung vorstehender kostspieliger Untersuchungen verdanken wir der Liberalität der Gesellschaft für die Beförderung der gesammten Naturwissenschaften in Marburg, welcher wir an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.