XIX.

Arbeiten aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie
zu Straßburg.

186. Pharmakologisches und Chemisches über das Physostigmin.

Von

Dr. W. Heubner,
ehemaligem Assistenten des Instituts.

A. Pharmakologische Versuche.

I. Versuche an Fröschen.

Eine größere Menge Physostigminsalz, die die Firma C. F. Böhlinger & Söhne in Waldhof bei Mannheim Herrn Professor Schmiedeburg zur Verfügung gestellt hatte, gab mir Gelegenheit, einige Versuche mit diesem interessanten Gift anzustellen. Seine pharmakologischen Wirkungen sind ja im Großen Ganzen zur Genüge erforscht und ausführlich beschrieben; nur einige bemerkenswerte Einzelheiten bleiben nachzutragen.

An Fröschen kann die Vergiftung, obwohl die nachweisbaren Angriffspunkte des Giftes wenige sind, doch recht vielgestaltig verlaufen. Von dem reinsten wirksamsten Präparat, (Physostigmin, sulf. 1) das mir zur Verfügung stand, riefen 5 mg*) an *R. esculenta*, subkutan appliziert, stets mit völliger Sicherheit nach einer Stunde absolute Lähmung hervor. Feldfrösche (*R. temporaria*) sind im Allgemeinen wohl etwas weniger empfindlich gegen das Gift. Neben dieser dominierenden Lähmungswirkung ist aber auch fast regelmäßig, entweder vor oder neben der völligen Lähmung einhergehend, der sogenannte „Fiedelbogenreflex“ und oft ein Schreireflex

*) Da sich herausstellte, daß das Physostigmin ein besonders an Säugetieren außerordentlich scharf dosierbares Gift ist, habe ich meine Lösungen stets nach ihrem Gehalt an reiner Base, nicht an Salz, verglichen; denn das salizylsaure Salz enthält auf 13 Teile 10 Teile Physostigmin, das schwefelsaure auf 12. Alle meine Zahlenangaben beziehen sich daher, wo nicht ausdrücklich anders erwähnt, auf freies Physostigmin.

zu beobachten, Erscheinungen also, die auf eine erregende Wirkung auf die motorischen Funktionsgebiete des verlängerten Marks schließen lassen. Größere Dosen, 15 mg, können auch richtige Konvulsionen zu Wege bringen. —

Zweimal bei vergleichender Prüfung von 8 verschiedenen Präparaten sah ich ausgesprochenen Reflextetanus, allerdings bei Präparaten (Physostigmin. salicyl. 1 und 2), deren Reinheit nach ihrer etwas geringeren lähmenden Wirksamkeit zu urteilen zweifelhaft war. Ich möchte aber hervorheben, daß dieser Tetanus sich mir bei diesen Präparaten als etwas unbeherrschbar Zufälliges darstellte: es gelang keineswegs durch Applikation der gleichen oder auch variierten Gaben an einer Reihe von gleichartigen Fröschen ebenfalls Tetanus hervorzurufen. Von etwa 12 Fröschen zeigte nur einer neben den sonstigen Physostigminerscheinungen auch andauernden Tetanus. Einmal (Physost. sulf. D) zeigte ein physostigminvergifteter Frosch bei der ersten Berührung einen ganz eklatanten kurzdauernden Tetanus, der aber nie zu wiederholen war.

Ein anderes, von allen übrigen besonders abweichendes Präparat (salicyls. Physostigmin.) rief regelmäßiger Tetanus hervor; es wurde entsprechend den Angaben von Harnack,¹⁾ wonach das nur lähmende Physostigmin in Äther leicht, das tetanisierende Calabarin in Äther schwer löslich ist, alkalisch mit Äther ausgeschüttelt, um es von dem vermuteten Calabarin zu trennen. Jedoch wider alles Erwarten war der Ätherrückstand noch sicherer tetanisierend, und wurde es bei mehrmaliger Wiederholung des Verfahrens immer mehr, so daß man schließlich so sicher wie durch Strychnin mit 1 mg binnen wenigen Minuten Tetanus erzeugen konnte. — Durch Behandeln mit superoxydhaltigem Äther konnte keine tetanisierende Base aus reinem Physostigmin (schwefels. Salz) künstlich erhalten werden. — Zum Vergleich wurde das in der Sammlung des Straßburger Pharmakologischen Instituts unter der Aufschrift „Calabarin“ geführte käufliche Präparat untersucht: es zeigte reine, jedoch schwache Physostigmin- und keine Spur einer tetanisierenden Wirkung.

II. Versuche an Säugetieren.

Auch an Säugetieren ist vor Eintritt der lähmenden tödlichen Wirkung stets eine Erregung zu beobachten, wie es ja frühere

1) Harnack u. Witkowski, *Pharmakol. Unters. über das Physostigmin und Calabarin*. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. V., 1876, S. 401, 405 ff.

Harnack, *Einige das Physostigmin betreff. pharmakol. u. chem. Fragen*, ebenda XII, 1880, S. 334.

Autoren bereits hervorgehoben haben. Kaninchen fahren oft wie besessen im Käfig hin und her, und stoßen heftig mit der Nase gegen die Wand, wenn sie durch Annäherung eines Menschen erschreckt werden. Bei schweren Vergiftungen, wenn sie nur nicht in zu kurzer Zeit (wenigen Minuten) zum Tode führen, kommen regelmäßig Krämpfe vor, die bei Hunden besonders ganz und gar epileptischen Anfällen ähneln. Durch Chloroformatmung sind sie sofort, leicht und sicher zu unterdrücken. Kleinere Dosen, 0,02 bis höchstens 0,15 mg pro kg Tier, intravenös injiziert erzeugen an Hunden, Katzen und Kaninchen gleichermaßen die bekannte Peristaltik des Darms, ohne daß bereits an anderen Organen sich Wirkungen bemerkbar machten. Auf dieser Tatsache beruht ja die Anwendbarkeit des Giftes in der Tierarzneikunde als subkutanes Abführmittel. Im Laboratorium habe ich diese unfehlbare und feine Reaktion oft verwandt, um kleine Physostigminmengen zu erkennen.

Nicht so gleichmäßig gestaltet sich die Wirkung auf Skelettmuskulatur und Zentralnervensystem bei den verschiedenen Tierarten, wenigstens nicht bei subkutaner Applikation. Die verschiedene „Empfänglichkeit“ für das Gift mag wohl in Differenzen der Resorptions- und Stoffwechselgeschwindigkeit begründet sein: Während Kaninchen subkutan Dosen bis 1,5 mg Physostigmin pro kg Tier sicher vertragen, ohne in Lebensgefahr zu kommen, können Hunde schon durch 0,25 mg pro kg sehr gefährdet und bei Vergiftungen mit 0,5 mg pro kg kaum noch durch anhaltende künstliche Atmung gerettet werden. Intravenös beträgt die binnen wenigen Minuten tötliche Dosis bei Kaninchen 0,4 mg pro kg oder etwas weniger, bei einer Katze fand ich 0,25 mg pro kg.

Die Todesursache bei der Vergiftung ist in erster Linie der Atemstillstand. Das Herz wird erst etwas später gelähmt. Zuweilen schien es mir zweifelhaft, ob nicht die reichliche Sekretion von Schleim in den Bronchien einen einfachen Erstickungstod herbeigeführt habe. Einen solchen Erstickungstod durch Physostigmin an Tauben beschreibt Dannemann.¹⁾

Die Skelettmuskulatur, die bei Kaninchen oft erst durch größere an die tötliche Grenze reichende Gaben in das charakteristische Flimmern versetzt wird, ist bei Hunden viel leichter affizierbar. Weniger als 0,1 mg pro kg subkutan macht sich bereits, auch wenn es noch nicht zu den fibrillären Muskelzuckungen kommt, an einer eigentümlichen Steifigkeit aller Glieder bemerkbar, die das

1) Beitr. z. Kenntn. der Wirk. des Physostigmins. Inaug.-Diss. Kiel, 1891.

Tier zu einem taumelnden, unbeholfen steifen Gange zwingt; es geht „wie auf Stöcken“.

Die oft enorme Totenstarre, die an Physostigminvergiftung gestorbene Tiere zeigen, steht ja im besten Einklang mit den übrigen Tatsachen der Physiologie, wonach kurz vor dem Tod sehr angestrengte Muskeln dies Phänomen stärker zeigen als untätige.

Interessant, wenn auch keineswegs überraschend, ist die Möglichkeit einer raschen schweren Allgemeinvergiftung vom Augenbindehautsack aus: 4 Tropfen einer 3 proz. Physostigminsulfatlösung in das Auge eines Kaninchens geträufelt, riefen nach 15 Minuten große Unruhe und Krämpfe des Tieres, nach 30' neben stärkster Myosis des einen Auges schwere Lähmung, Schleimsekretion in den Bronchien und heftige fibrilläre Muskelzuckungen hervor. Obgleich die Dosierung ungenau ist, da stets ein Teil der Flüssigkeit aus dem Bindehautsack wieder herausfließt, so müssen doch von den angewandten 6 mg mindestens die Hälfte sehr rasch resorbiert worden sein. Bei schweren Allgemeinvergiftungen vom Blut oder dem Unterhautzellgewebe aus erreicht die Konzentration des Giftes im Augapfel nur selten eine solche Höhe, daß eine Verengung der Pupillen wahrzunehmen wäre; der Zustand der Pupille kann also beim Physostigmin keineswegs als diagnostisches Merkmal gelten, wie etwa bei Atropin- oder Muskarinvergiftung.

III. Versuche am Menschen.

Die an Tieren so regelmäßig beobachtete isolierte Darmwirkung des Physostigmins bei kleinen Gaben, sowie die Sicherheit, ein einheitliches, höchst wirksames, wohl ganz reines Präparat in Händen zu haben, veranlaßten mich die Frage aufzunehmen, ob das Gift unter Umständen als subkutanes Abführmittel am Menschen Verwendung finden könne. Es sind, besonders von chirurgischer Seite, ab und zu vereinzelte Versuche in dieser Richtung veröffentlicht worden, die jedoch nie so überzeugend und ermutigend ausgefallen sind, daß sich das Mittel allgemeinen Eingang verschafft hätte. Auch meine Resultate sind nicht einheitlich, da beim Menschen die Empfänglichkeit der Darmmuskulatur für Reize individuell wohl recht verschieden ist; ja mir scheint fast der Schluß berechtigt, daß bei tragem Stuhlgang eben eine herabgesetzte Erregbarkeit der Darmmuskulatur die Ursache ist. Vor allem ist auch beim Menschen sehr darauf zu achten, daß das Gift nach dem Körpergewicht dosiert werde, da recht geringe Differenzen der Dosis bereits einen großen Unterschied der Wirkungsintensität bedingen können.

Ich begann mit Selbstversuchen, bei denen es natürlich dahingestellt bleiben muß, ob und wie weit eine psychische Erregung der Darmperistaltik im Spiele gewesen sein kann. Jedoch hatte ich vor Anwendung der wirksamen Dosen bereits mehrere Versuche mit kleineren Dosen hinter mir, bei denen trotz des gleichen erwartungsvollen psychischen Zustandes die Wirkung ausgeblieben war. Ich fand für mein Gewicht von 78 kg die Dosis von 1 mg Physostigmin subkutan als wirksam, während noch die Hälfte ganz ohne Wirkung blieb; diese Dosis entspricht 0,013 mg Physostigminum purum und 0,015 mg des reinsten Physostigminum sulfuricum Böhlinger (1. oder A.) pro kg.

Die Tage vor und nach den Versuchstagen hatte ich regelmäßig einmal täglich des Morgens Stuhlgang, ebenso an den Versuchstagen. Am 13. und 20. Januar 1905 nachmittags 5^h 30' ließ ich mir durch Herrn Dr. Schwenkenbecher von der medizinischen Klinik in Straßburg je 1,2 mg Physost. sulf. subkutan am Arm einspritzen, das eine Mal in 0,60-, das andere in 0,12proz. Lösung. Nach 15 bis 25 Minuten trat ein leichtes Schwindelgefühl, Unbehagen, leichter Schweiß im Gesicht, kurz ein eben angedeuteter Nauseazustand ein, ähnlich dem bei leichtester Nikotinvergiftung, der jedoch nicht bis zu eigentlicher Übelkeit und Brechreiz führte, mich auch an Umhergehen und Beschäftigung nicht hinderte. Nach 30 Minuten waren deutlich Darmbewegungen zu spüren, es stellten sich Flatus und Stuhldrang ein, der nach 40 (im zweiten Versuch 65) Minuten zu einem sehr reichlichen Stuhl führte. Nach fünfviertel bis anderthalb Stunden war der körperliche Zustand wieder absolut frei und normal, nur blieben leise Darmbewegungen noch eine Zeitlang fühlbar. Puls und Atmung blieben während der ganzen Versuchsdauer unverändert, Schmerzen im Leibe waren nicht vorhanden.

Zu weiteren Versuchen stellte sich mir liebenswürdiger Weise Herr Dr. A. F. zur Verfügung:

31 Jahr alt, 65 kg schwer, leidet an Stuhlträgheit.

1. Versuch: 14. I. morgens die letzte reichliche Entleerung.
16. I. morgens 8^h: 10 g Rizinusöl innerlich,
nachmittags 2^h 45': wenig, ganz ungenügender Stuhl,
2^h 50': Puls 102,
3^h 0': 1,0 mg Physost. sulf. subkutan,
3^h 10': Puls 88,
3^h 15': } Nauseazustand, der bis zu ausgesprochenem
bis 3^h 45': } Brechgefühl führte.
leichter Schwindel hält an.
4^h 10': Reichliche Stuhlentleerung.

2. Versuch: am 17. I. 2^h 45': 1,2 mg Physost. sulf. subkutan.
 2^h 48': Beginnender Schwindel und Nausea,
 2^h 58': Übelkeit, Brechreiz, Stuhltrieb,
 3^h 08': Mäßig viel fester Stuhl entleert,
 3^h 10': }
 bis 3^h 20': } Starke Nausea,
 3^h 25': Beginnende Erholung,
 3^h 40': Fast vollständig erholt.

Wie in diesen Versuchen die geringe Erhöhung der Dosis von 1,0 auf 1,2 mg schon zu deutlich verstärkten Symptomen führte, trat das noch mehr hervor bei einem Versuch an einer Dame, bei der die Dosis von 1,2 mg in Folge ihres leichteren Gewichts bereits zu viel heftigeren Vergiftungserscheinungen führte:

Frl. L., 26 Jahr alt, 48 kg schwer, leidet dauernd an Stuhlträgheit.

12. IV. 2^h nachmittags: Letzter Stuhlgang,

14. IV. 4^h 05': 1,2 mg Physost. sulf. subkutan,
 4^h 25': Beginnende Übelkeit, Schwindel, leichter Stuhltrieb,

4^h 30': Starker Stuhltrieb, mäßig reichliche Entleerung,

4^h 33': Starker Schwindel, Brechreiz.

4^h 38': Erbrechen,

4^h 50': Reichliches Erbrechen,

5^h 15': Beginnende Erholung,

5^h 30': Völlige Erholung,

6^h 35': Stuhlentleerung,

8^h 50': Stuhlentleerung.

Herr Dr. Schwenkenbecher hatte im Einverständnis mit Herrn Professor v. Krehl die Güte, ähnliche Versuche an der medizinischen Klinik in Straßburg vorzunehmen und mir die Ergebnisse zu überlassen; seine Resultate sind größtenteils negativ gewesen. Im ganzen wurden 6 Versuche an 5 Kranken, und zwar durchweg an Frauen vorgenommen:

I. Frau G.

am 20. I. 5^h 35' nachmittags: 1,2 mg Physost. sulf. subkutan, keinerlei Wirkung.

II. Frau O. 58 Jahr alt, 49 kg schwer, Myelitis.

am 19. I. 5^h 15' nachmittags: 0,8 mg Physost. sulf. subkutan, keinerlei Wirkung.

III. Dieselbe.

am 20. I. 12^h 45' mittags: 1,2 mg Physost. sulf. subkutan.
 Etwas Schwindel, Hitze im Kopfe, mehrere Stunden lang Abgehen von Winden.

IV. L. H. 25 Jahr alt, 43 kg, Nierenblutung.

am 21. I. 6^h nachmittags: 1,2 mg Physost. sulf. subkutan,
6^h 15': Schwindel, leichte Übelkeit,
7^h 00': { Schweiß, Hitzegefühl, Schwindel, Übelkeit,
Pulsverlangsamung (von 84 auf 56),
Kein Stuhl, keine Blähungen

V. E. G. 39 Jahr alt, 56 kg schwer, Tuberkulose, Obstipatio chronica.

am 22. I. 05. 10^h 30' vormittags: 1,4 mg Physost. sulf. sub-
kutan,
11^h 00': { Schwindel, Kopfdruck, Übelkeit, Er-
brechen, profuser Schweiß,
7^h 30' nachmittags: Geringer fester Stuhl unter
mäßigen Leibschmerzen.

VI. F. M. 24 Jahr alt, 50 kg schwer, Magengeschwür, starke Obstipation.

am 22. I. 10^h 30' vormittags: 1,4 mg Physost. sulf. subkutan.
Mäßiger Schwindel, geringes Eingenommen-
sein des Kopfes.

1h 30' mittags: reichliche Stuhlentleerung.

23. I. 1h 30' nachts: reichliche Stuhlentleerung.

Die Behandlung habitueller Obstipation mit Physostigmin erscheint demnach völlig aussichtslos. Jedoch ist es nicht ausgeschlossen, daß bei geeignet ausgewählten Fällen, wo eine innerliche Applikation Schwierigkeiten macht, bei Bewußtlosen, kleinen Kindern, in der Chirurgie nach Darmoperationen, die Darmwirkung des Physostigmins mit Vorteil und ohne Bedenken zur Anregung der Darmperistaltik verwertet werden kann. 0,015 mg Physostigminum sulfuricum pro kg dürfte nie zu unangenehmen Erscheinungen (Erbrechen etc.) führen. Eine große Annehmlichkeit liegt in dem schnellen Eintritt der Physostigminwirkung und dem damit verbundenen schnellen Abklingen etwa aufgetretener unerwünschter Symptome.

IV. Schicksale des Physostigmins im Organismus.

Eine Gewöhnung an Physostigmin tritt nicht ein: Ein Hund von 10 kg erhielt 9 Tage lang täglich einmal, 8 weitere Tage täglich zweimal 2 mg Physostigmin subkutan; jede Injektion hatte eine etwa 1½ Stunden dauernde mittelschwere Vergiftung zur Folge, mit Muskelzittern, Speichelfluß, Aufregung und — mit seltenen Ausnahmen — Kotentleerung. Keines dieser Symptome zeigte eine merkbare Abschwächung. Am 18. Tage wurde die zweimalige Dosis

auf 2,5 mg erhöht; am 19. Tage auf 3 mg; die Symptome steigerten sich, besonders die Geschwindigkeit ihres Eintritts. 1 mg rief am 19. Tage mit derselben Deutlichkeit fibrilläre Muskelzuckungen hervor, wie am ersten.

Der eben geschilderte Versuch gab Gelegenheit, zu prüfen, ob unverändertes Physostigmin in den Harn übergehe. Bei Körpern, die in so kleinen Dosen tödlich sind, hat es naturgemäß Schwierigkeiten, sie nach dem Durchgang durch den Organismus wiederzufinden. Diesem Hunde waren in einem Zeitraum von 19 Tagen 60 mg Physostigmin einverleibt worden. Der Harn wurde gesammelt, täglich morgens mit Salzsäure versetzt und auf dem Wasserbad auf etwa ein Drittel seines Volumens eingedampft. Die Gesamtmasse des eingeeengten Harns betrug schließlich 5 Liter; er wurde in dem von Faust¹⁾ beschriebenen Verdampfungsapparat bei 55° auf 1 Liter eingeeengt, danach mit Natronlauge genau neutralisiert und ganz zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit Alkohol extrahiert, filtriert, der Alkohol im Verdampfungsapparat bei 40° verjagt. Der sirupöse Alkoholrückstand löste sich in Wasser mit saurer Reaktion. Die Lösung wurde mit Äther ausgeschüttelt, danach mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht und wieder mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther blieb größtenteils emulgiert, die Emulsion wurde von der klaren wässerigen Lösung getrennt und mit schwach salzsaurem Wasser ausgeschüttelt. Die salzsaure Lösung wurde auf dem Wasserbad eingedampft und gab einen sehr geringen Rückstand I. Die von der Ätheremulsion getrennte alkalische Flüssigkeit wurde danach noch mit Chloroform ausgeschüttelt, das sich besser absetzte; es wurde mit Wasser gewaschen und auf dem Wasserbad abgedunstet. Der Rückstand II wurde mit einer Spur Salzsäure im Wasser gelöst.

Der Kot des Hundes wurde täglich auf dem Wasserbad getrocknet, die Gesamtmenge zerstoßen und möglichst pulverisiert, das feine Pulver wurde durch ein Sieb von Haaren, Knochen und groben Kotstücken getrennt. Dies Kotpulver wurde mit Äther extrahiert, die Hauptmenge des Äthers abdestilliert, der ölige Rückstand mit schwach salzsaurem Wasser geschüttelt. Es bildete sich eine Emulsion, die durch Filtration als klare wässrige Flüssigkeit erhalten werden konnte. Der Rand dieses Filters färbte sich beim Eintrocknen blaßrot (Rubreserin?). Die wässrige saure Lösung wurde mit Äther

1) Über das Fäulnisgift Sepsin. — Arch. f. experimentelle Pathol. u. Pharm. LI, 1904, S. 255 ff.

geschüttelt, danach alkalisch gemacht, und wieder mit Äther und auch noch mit Chloroform ausgeschüttelt. Äther und Chloroform wurden gewaschen, vereinigt und abgedampft, der Rückstand III löste sich in Wasser mit neutraler Reaktion.

Die drei Rückstände wurden auf ihre Wirksamkeit am Tier geprüft, III am Katzen-, I und II am Kaninchendarm. I und III zeigten keinerlei Wirkung, während der Rückstand II an seinen Wirkungen als physostigminhaltig erkannt werden konnte:

Einem Kaninchen von 2 kg wurde im Kochsalzbad bei 37° der Darm bloßgelegt, und in die Jugularvene die Hälfte (2 ccm) der Auflösung des Rückstandes II injiziert. Sofort sehr erschwerte und verlangsamte Atmung, fibrilläres Muskelzucken am Masseter und an den Bauchmuskeln. Nach 4 Minuten Beginn von starken, krampfhaften Darmbewegungen, nach 5 Minuten Tod des Tiers durch Atemstillstand. Fibrilläres Muskelzucken und Darmkrämpfe dauern noch nach dem Atemstillstand an.

Ein weiterer Teil der Lösung ($\frac{1}{2}$ ccm) wurde einem Hunde von 5 kg subkutan appliziert: nach 15 Minuten steife hölzerne Muskelbewegungen, stellenweise Muskelflimmern; nach 30 Minuten dasselbe anhaltend, leises Zittern und schwerfällige, langsame Bewegungen; die Reflexerregbarkeit erschien etwas erhöht.

3 Tropfen derselben Lösung wurden einem Kaninchen mit gleich großen Pupillen ins rechte Auge geträufelt; nach 15 Minuten: deutliche Myosis rechts; nach 1 Stunde: starke Myosis rechts, der Pupillendurchmesser betrug etwa ein Drittel des linken; nach 4 Stunden: Myosis rechts noch immer deutlich.

Es wurden also von 60 mg applizierten Giftes schätzungsweise 2 mg aus dem Harn wieder isoliert. Danach ist es zweifellos, daß das so sehr leicht angreifbare Physostigmin doch zum Teil unverändert den Organismus passiert. Es erscheint auch unwahrscheinlich, daß bei subkutaner Applikation etwa ein so großer Teil des Giftes direkt den Nieren zugeführt wurde, ohne vorher mit Nerven-, Muskel- oder Drüsengewebe in Berührung gewesen zu sein.

Bei Fröschen beobachtete ich zuweilen nach Physostigminvergiftung eine Blaufärbung des Harns, die man wohl auf Bildung des sogenannten Physostigminblaus, eines Abbauproduktes, zurückführen dürfte. Beim Schütteln mit Chloroform ging der blaue Farbstoff in das Chloroform über. (Physostigminblau geht ebenfalls aus alkalischem Wasser in Chloroform über.)

Hervorzuheben ist noch, daß die Physostigminvergiftung in allen Fällen an Warmblütern rapid abläuft. Selbst nach schwersten Vergiftungen ist nach anderthalb Stunden stets der Normalzustand

wieder hergestellt. Das Gift wird offenbar sehr schnell mit dem Harn ausgeschieden. Diese Geschwindigkeit der Ausscheidung, die an die des Curarins erinnert, konnte noch in einem besonderen Versuche deutlich gemacht werden:

Unter Beobachtung des Darms im Kochsalzbad bei 37° wurden einem Kaninchen von 2 kg in kurzen Zeiträumen kleine Gaben Physostigmin ins Blut injiziert: Darm vor dem Versuch in Ruhe.

10h 30': 0,05 mg	stellenweise einige mäßig starke Darmbewegungen,
40': 0,1 "	dasselbe,
50': 0,1 "	dasselbe,
	53': Stuhlentleerung; fortgesetzt kräftige Peristaltik,
11h 00': 0,1 "	dasselbe,
10': 0,1 "	
	14': Atmung etwas röchelnd, 128 in der Minute. Kein fibrilläres Muskelzucken; Puls an den sichtbaren Darmarterien gezählt: 240,
	20': Röcheln hört auf,
25': 0,1 "	
40': 0,15 "	sehr lebhafte Peristaltik,
	42': Puls 220,
	43': Atmung 180,
	57': Atmung 175,
	59': Puls 190, Darm in Ruhe,
12h 0': 0,7 "	Sofort heftige Krämpfe der Körpermuskulatur, Darm wird weiß (blutleer), fest kontrahiert,
	Atmung erschwert und stockend,
	4': Atemstillstand. Überall fibrilläres Muskelzucken, heftige Darmbewegungen,
	5': Herzstillstand.

Dieselbe Dosis von 0,7 mg, die auf 70 Minuten verteilt nicht die geringsten bedrohlichen Erscheinungen machte, tötete als Einzeldosis das Tier binnen 4 Minuten.

V. Verhalten von Physostigminderivaten im Organismus.

Von den bisher bekannten Spaltungsprodukten des Physostigmins fallen am meisten durch ihre hervorstechende Farbe und die Leichtigkeit ihrer Bildung in die Augen das Rubreserin, schöne rote Nadeln, und das Physostigminblau, ein tiefblauer amorpher Körper. Da sie beide im Gegensatz zum Physostigmin in Äther un-

löslich sind, jedoch löslich in Wasser, Alkohol, Chloroform, so lassen sie sich leicht rein darstellen, zum mindesten physiologisch rein, das heißt frei von Physostigmin und von dem als Nebenprodukt abgespaltenen Methylamin. Dann lösen sich beide Körper mit neutraler Reaktion sehr leicht in Wasser. Das Rubreserin ist vollständig ungiftig. Da die Versuche früherer Autoren, wenigstens in dem Umfang wie sie publiziert vorliegen, über diesen Punkt nicht ganz ausreichend erscheinen, möchte ich dafür Belege nennen:

Ein Hund von 11 kg erhielt 20 mg Rubreserin subkutan, ohne irgend welche Wirkung. Dreiviertel Stunde später 60 mg (3 ccm) subkutan, ebenfalls ohne irgend eine Veränderung.

Ein Kaninchen von 2 kg mit bloßgelegtem Darm im Kochsalzbad bei 37° erhielt 40 mg Rubreserin (2 ccm) auf einmal intravenös, ohne irgend welche Darm- oder allgemeine Wirkung. — Nach einer Stunde wurde das Tier getötet. Der aus der Blase entleerte Harn sah dunkelgrün aus, nach einigen Minuten an der Luft braun. Er wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, es entstand eine braunrote Chloroformlösung; beim Filtrieren färbte sich das Filter stellenweise blau (Physostigminblau?); ebenso wurde beim Abdampfen des gewaschenen Chloroforms ein Teil des Rückstandes blau, die Hauptmasse war braunrot. Diese wurde in wenig Chloroform gelöst und in Petroläther eingetragen: es fielen die roten Kristallnadeln des Rubreserins aus.

Das Physostigminblau ist an Säugetieren auch ungiftig, wenigstens in kleinen Dosen:

Einem Kaninchen von 2,15 kg wurde intravenös Physostigminblau injiziert

12 ^h 15': 1,5 mg	} insgesamt 12 mg binnen 10 Minuten
16': 1,5 "	
20': 3,0 "	
22': 3,0 "	
25': 3,0 "	
32': Tier losgebunden, absolut normal; ebenso die nächsten 3 Stunden.	

Dagegen hat das Physostigminblau eine ausgesprochene allgemein lähmende Wirkung auf das Froschherz:

Von demselben Präparat, das am Kaninchen geprüft wurde, erhielt am selben Tage eine große Esculenta

12 ^h 40': 3,5 mg subkutan,
1 ^h 00': Nichts Abnormes,
3 ^h 00': Frosch absolut gelähmt,
Herz bloßgelegt: Atrien schlagen kräftig und regelmäßig, Ventrikel pulsiert ganz schwach und peri-

staltisch in mittlerer Stellung zwischen Systole und Diastole,
6h 00': Absoluter Herzstillstand.

Von einem anderen Präparat, dessen Lösung ins Kaninchenauge geträufelt ganz wirkungslos war, lähmten 6 mg eine Temporaria in 1 Stunde, nach 20 Stunden wurde der Frosch tot gefunden. Ein drittes Präparat, 4 mg, lähmte eine kleine Eskulenta bereits nach 15 Minuten, nach 40 Minuten Herz bloßgelegt: Matte und langsame Pulsation.

An allen diesen Fröschen waren bei der Sektion Leber, Darm, Niere, Blase und Harn blau gefärbt.

Es scheint mir nach meinen Versuchen, daß dem Physostigminblau neben der Herzwirkung eine direkt lähmende auf das Zentralnervensystem zukommt. Denn der Verdacht, es könnte die schnelle Lähmung durch beigemengtes unverändertes Physostigmin bedingt sein, muß abgelehnt werden, man müßte denn an 90 Proz. „Verunreinigung“ annehmen wollen; die lähmende Physostigmindosis ist kaum kleiner als die angewandten Substanzmengen betragen. Vor allem aber müßten am Kaninchen irgend welche Andeutungen einer Physostigminwirkung aufgetreten sein.

Die Herzwirkung des Physostigminblaus konnte ich mit Sicherheit in mehreren Versuchen am isolierten Froschherzen nachweisen, und zwar besteht sie in einer wenig charakteristischen allgemein depressiven Einwirkung auf die Herzfunktion:

Eskulenta-Herz im Williams-Apparat von Albanesescher Lösung durchflossen.

- 10h 55': Puls = 18 i. d. M., absolute Kraft = 61 cm Wasserhöhe
- 11h 10': " = 17 " " " = 62 "
- 11': etwas 0,2 Proz. Lösung von Physostigminblau der Nährflüssigkeit beigemischt,
- 13¹/₂': blaue Farbe erreicht das Herz,
- 14': Puls = 14 i. d. M.,
- 17': absolute Kraft = 62 cm Wasserhöhe,
- 23': Puls = 12 i. d. M.,
- 28': " = 11 " " unregelmäßig,
- 30': } Normalflüssigkeit strömt durch das Herz, Zustand derselbe
- bis 38': }
- 39': Nährflüssigkeit mit etwa 0,1 Proz. Giftgehalt beginnt durch das Herz zu strömen,
- 40': absolute Kraft = 40 cm Wasserhöhe,
- 41': Puls = 24 i. d. M., sehr klein,
- 43': Herzstillstand in mittlerer Stellung.

Die aufgezeichnete Kurve gab im wesentlichen nur eine geringere Pulszahl im Anfang, eine immer mehr absinkende Pulshöhe gegen Ende der Vergiftung an.

B. Chemische Versuche.

I. Übersicht der bereits bekannten Tatsachen.

Um die Chemie des Physostigmins haben sich hauptsächlich Eber¹⁾, Ehrenberg²⁾ und Petit und Polonovsky³⁾ Verdienste erworben.

Eber stellte fest, daß bei $\frac{1}{4}$ stündigem Erhitzen von Physostigmin mit Traubenzucker und Soda auf dem Wasserbad unter Petroläther (ebenso bei längerem Kochen einer neutralen Physostigminlösung) ein Körper entsteht, der in seinen Löslichkeitsverhältnissen und den meisten Reaktionen dem Physostigmin gleicht, nur am Tierversuch sich als wirkungslos erweist: „Inaktives Physostigmin“. Die Lösung dieses Körpers zeigte eine viel größere Tendenz sich zu röten als die des wirksamen Physostigmins.

Ehrenberg erhitzte Physostigmin mit 10 proz. Kalilauge im Wasserstoffstrom und erhielt bei fortgesetztem Luftabschluß eine in Äther lösliche Base Eserolin. Diese ging sofort bei Luftzutritt in das rote Rubreserin über.

Hält man diese beiden Beobachtungen zusammen, so darf man wohl daraus den Schluß ziehen: Die „inaktive Base“ Ebers war Eserolin: Beide Autoren ließen in der Hitze Alkali und Reduktionsmittel bei Luftabschluß einwirken und erhielten einen ätherlöslichen, sehr leicht rot werdenden basischen Körper.

Ehrenberg fand weiter, daß neben Eserolin Kohlensäure und Monomethylamin abgespalten wird, bei Gegenwart von Ammoniak als Methylharnstoff. Petit und Polonovsky fanden ebenfalls Kohlensäure und Monomethylamin bei der Zinkstaubdestillation; daneben trat eine flüssige Base, ein neutrales Öl und eine phenolartige Substanz auf, nur die letzte durch Kristallisation und Schmelzpunkt von 107° einigermaßen charakterisierbar.

Aus allen vorliegenden Befunden ergibt sich für Physostigmin $C_{15}H_{21}N_3O_2$ folgendes Konstitutionsbild:

Für die Bildung des Eserolins und Rubreserins gelten nach Ehrenberg folgende Formeln:

1) Neue Beitr. z. Kenntn. der chem. u. physiol. Eigentümlichkeiten des Physostigmins. — Pharmazeut. Zeitung 1888. — Referat siehe Pharmazeut. Jahresbericht 1888, S. 358.

2) Über Alkaloide der Calabarbohnen. Verh. der Vers. deutsch. Naturf. und Ärzte, Nürnberg, 1893, II, naturwiss. Abteil. S. 102.

3) Etude sur l'ésérine. — Bull. de la Société chimique de Paris. III. Serie, 9, 1893, S. 1008.

Reines Rubreserin in neutraler Lösung ist beständig. In alkalischer Lösung geht es leicht in Physostigminblau über; nach Ehrenberg soll sich vor dem Übergang in den blauen Körper ein brauner „Bruneserin“ bilden; nach meinen Beobachtungen ist das ein seltener Fall, obgleich auch ich den Umschlag Braun in Blau gesehen habe. Meistens jedoch entsteht nach der roten erst die blaue Farbe und diese geht dann in ein Braungelb über, das sich nicht weiter verändert. Die Menge isolierbaren Physostigminblaus, die sich aus einer gewissen Menge Rubreserin bildet, ist soweit ich es beurteilen kann, stets gering. Der Körper hat eine sehr große Färbekraft und teilt schon in kleiner Menge der Lösung eine intensive blaue Farbe mit. Auch feste Körper, organische und anorganische Kristalle können durch sehr geringe Beimengungen schön blau gefärbt werden. Vielleicht darf in diesem Zusammenhang auf den Befund hingedeutet werden, den Petit¹⁾ 1871 in wenigen Worten mitteilt, wonach er beim Eindampfen von Physostigminsulfat mit Ammoniak Kristalle von Physostigminblau erhielt; dieser Befund ist weder von ihm noch von anderen Autoren seitdem wiederholt worden.

So ist auch über die chemische Natur des Physostigminblaus nichts bekannt; noch weniger über die aus ihm durch Alkali entstehenden braunen Produkte, die in Lösung grünlich fluoreszieren.

II. Bildung des Eserolins.

Die geschilderte Einwirkung von Reduktionsmitteln in alkalischer Lösung auf das Physostigmin hat eine hohe praktische Bedeutung. Bei der technischen Darstellung des Giftes und seiner Salze ist besonders darauf zu achten, daß die Bildung von Eserolin verhindert wird. Schon Eber beklagte sich darüber, daß von den Fabriken im Laufe der Zeit immer schönere, jedoch weniger wirksame Präparate geliefert worden seien.

Ich habe verschiedene Reduktionsmittel auf Physostigmin, meist in alkalischer Lösung, wirken lassen und am Tierversuch die Herabsetzung der Wirksamkeit des Giftes geprüft. Durch Behandeln mit Zink und Einleiten von Wasserstoff in die alkalische oder neu-

1) Journal de Pharm. et de Chim. 4. Sér. XIII, 1871, S. 327.

trale Lösung bei Wasserbadtemperatur, ebenso durch Hydrazin in alkalischer Lösung bei 37° und unter Luftabschluß ließ sich die Wirksamkeit des Physostigmins bedeutend abschwächen. Doch sind die Versuchsbedingungen nicht scharf anzugeben, bei augenscheinlich gleichem Verfahren kann die Abschwächung einmal gering, ein ander Mal sehr erheblich sein.

Von mehreren Versuchen sei der folgende angeführt: 0,5 g salizylsaures Physostigmin (davon 0,5 mg pro kg intravenös, 2 mg pro kg subkutan tödlich für Kaninchen!) wurde mit schwefelsaurem Hydrazin in Wasser gelöst, mit Paraffin überschichtet und danach mit überschüssiger Natronlauge versetzt. Die Mischung blieb 3 Tage bei 37° stehen. — Darauf wurde die wässrige Lösung mit einer Pipette unter dem Paraffin aufgesogen, sofort unter Äther fließen lassen und ausgeschüttelt. Der Äther wurde mit Wasser gewaschen und bei 37° eingetrocknet: 0,2 g alkalisch reagierender Rückstand.

Der Rückstand wurde unter Schwefelsäurezusatz in Wasser neutral gelöst, wobei er sich sofort dunkelrot färbte. Wenige Minuten nach der Auflösung unternahm ich folgende Versuche:

Kaninchen von 1,9 kg erhält

11h 54': 3,3 mg des Rückstandes intravenös,

12h 4': 3,3 "

9': 6,6 "

12': 6,6 "

15': Tier losgebunden, sitzt sofort aufrecht, bewegt sich spontan wie ein normales. Geringe Schlafheit der Glieder.

Kaninchen von 2,3 kg erhält

12h 40': 30 mg des Rückstandes subkutan,

1h 20': Tier absolut normal,

3h 15': " " "

Jede Spur einer Physostigminwirkung war also verschwunden.

Übrigens läßt sich auch ohne Luftabschluß die Bildung von Eserolin aus Physostigmin neben Rubreserin nachweisen: Behandelt man eine Physostigminlösung längere Zeit mit Kalilauge, so wird allmählich alles Physostigmin zerstört; man erkennt es daran, daß beim Schütteln mit Luft die rote Rubreserinfarbe keinen dunkleren Ton mehr annimmt. Dann läßt sich aus der tiefroten Lösung mit Äther eine farblose Base ausschütteln, die unwirksam ist.

Faßt man alle chemischen und pharmakologischen Befunde zusammen, so hat man als mögliche Verunreinigungen der Physostigminpräparate zu unterscheiden:

- 1) Calabarin, in Äther schwer lösliche, tetanisierende Base,
- 2) Eserolin, in Äther leicht lösliche, unwirksame Base,
- 3) eine in Äther leicht lösliche tetanisierende Base.

Nach den Resultaten meiner Untersuchungen müßten die Physostigminpräparate pharmakologisch auf ihre Reinheit geprüft werden, bevor sie in den Handel kommen.

III. Spaltung des Physostigmins in alkalischer Lösung.

Durch Herstellung möglichst einfacher Reaktionsbedingungen suchte ich die allmähliche Aufspaltung des Physostigminmoleküls zu verfolgen, insonderheit die Bedingungen der Bildung des Rubreserins und Physostigminblaus näher abzugrenzen. Die beiden Körper müssen als Basen betrachtet werden, obwohl sie sich ohne Säurezusatz neutral in Wasser lösen: sie lassen sich beide aus alkalischer wässriger Lösung mit Chloroform ausschütteln und treten nach dem Ansäuern in das Wasser zurück, das Physostigminblau mit seiner prachtvollen roten Fluoreszenz.

Stellt man sich aus einer Lösung von schwefelsaurem Physostigmin durch genaue Ausfällung der Schwefelsäure mit Barytwasser eine wässrige Lösung des reinen Alkaloids her, so bildet sich in dieser Lösung auch bei 3 tägigem Durchleiten von Luft und Sauerstoff, ebenso bei gleichzeitigem Erwärmen auf 80—90° nur Rubreserin; die Flüssigkeit wird tiefdunkelrot und verändert sich weiter nicht. Beim Schütteln mit Chloroform geht Rubreserin ins Chloroform über, aber ohne Alkalizusatz nur eine sehr geringe Menge. Beim Eintrocknen, Eindampfen, längere Zeit fortgesetztem Kochen dieser, Rubreserin, Methylamin und Kohlensäure enthaltenden wässrigen Lösung treten weitere Veränderungen ein. Es bilden sich Physostigminblau und braune, nicht näher definirbare amorphe Produkte, die zusammen ein schwärzliches, grünliches oder bräunliches Aussehen haben. Nur einigemal konnte ich nach Behandeln solcher dunkler Lösungen mit Tierkohle, nachfolgender Extraktion der Rückstände mit Alkohol und völligem Trocknen im Vakuum in der amorphen braunen Hauptmasse verstreut farblose, sehr zerfließliche, zackig oder sternförmig angeordnete Kriställchen bemerken, deren Isolierung jedoch nur in sehr geringer Menge (einige Zentigramm) mit Hilfe ihrer etwas geringeren Löslichkeit in Alkohol gelang.

Die Kristalle blieben beim Eindampfen der schließlich fast farblosen wässrigen Lösung in verfilzten, schnell zerfließenden Nadeln zurück, beim Eindampfen der alkoholischen in sternförmig angeordneten abgerundeten regulären Formen; sie fielen durch Ätherzusatz aus der alkoholischen Lösung kristallinisch aus. Sie hatten keinen Schmelzpunkt, bräunten sich bei 170° und waren bis 240° ganz verkohlt. Mit sorgfältig ausgeglühtem Natronkalk erhitzt, ließen sie

Lakmus stark bläuende Dämpfe entweichen. Eine Lösung der Kristalle in Wasser, die ein paar Tage im verschlossenen Gläschen gestanden hatte, nahm einen stark aromatischen Geruch (ähnlich dem Benzaldehyd) an. Pharmakologische Wirkungen konnte ich bei einem Versuch am Kaninchen mit 40 mg Substanz nicht bemerken, ebenso wenig mit 10 mg an einer Esculenta. Es gelang mir nicht eine größere Menge dieser Kristalle zu erhalten. Bei der großen Zersetzlichkeit des Physostigmins laufen stets mehrere Reaktionen neben einander her, besonders aber drängt die sehr starke Tendenz zur Bildung der braunen unkristallisierbaren Oxydationsprodukte alle anderen bald in den Hintergrund, und dies um so mehr, je längere Zeit bei größeren Substanzmengen die einzelnen Operationen, Filtrieren, Abdampfen, in Anspruch nehmen.

Die braun, grün oder sonst gefärbten amorphen Massen ließen sich durch Kochen mit Zinn und Salzsäure stets in farblose Lösungen überführen; nach Entfernen des Zinns mit Schwefelwasserstoff entstand jedoch augenblicklich wieder die ursprüngliche braune Färbung.

IV. Aufspaltung des Physostigmins durch Säuren.

Da die Spaltung des Physostigmins durch Alkalien so sehr leicht zu chemisch schwer charakterisierbaren Produkten führt, versuchte ich die Aufspaltung durch Säure. Zunächst handelte es sich um die Feststellung, ob Säuren und unter welchen Bedingungen das Physostigminmolekül energisch angreifen. Als Kriterium benutzte ich wieder den Tierversuch, der gerade bei dem so scharf dosierbaren Physostigmin leicht quantitativ zu gestalten ist. Ich kochte schwefelsaures Physostigmin mit Schwefelsäure am Rückflußkühler eine gewisse Zeit, neutralisierte mit festem Barythydrat und Barytwasser genau und prüfte eine abgemessene Menge des Filtrats durch intravenöse Injektion am Kaninchen. Dabei ergab sich

nach mehrstündigem Kochen mit 1 proz. Schwefelsäure: Volle Wirksamkeit,

nach 3stündigem Kochen mit 10 proz. Schwefelsäure: Starke Abschwächung, doch noch merkliche Wirksamkeit,

nach 7stündigem Kochen mit 20 proz. Schwefelsäure: Völlige Vernichtung jeder Wirksamkeit.

2 g Physostigminsulfat wurden mit 250 cem 20 proz. Schwefelsäure 7 Stunden am Rückflußkühler gekocht, dabei färbte sich die Flüssigkeit schwach gelblich, später blaß bläulich violett. Davon wurden 150 cem mit starker Salzsäure versetzt (um ein Eintreten alkalischer Reaktion zu verhüten) und die Schwefelsäure durch Zusatz

von festem Barythydrat ausgefällt. Das salzsaure, bariumchloridhaltige Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand mit Alkohol extrahiert; der Alkohol ebenfalls abgedampft. Der Rückstand war braun gefärbt, doch durchweg kristallinisch, verfilzte Nadeln. Er wurde in Wasser gelöst, mit Tierkohle gekocht, der Rückstand des Filtrats bestand aus 0,07 g fast farbloser Kristalle. Sie zeigten bis 300° keinen Schmelzpunkt, gaben ein in büschelförmigen Nadeln kristallisierendes platinchlorwasserstoffsäures Salz, doch in zu geringer Menge.

Der Rest von 100 ccm der ursprünglichen Lösung wurde ohne Salzsäurezusatz mit Barythydrat vollständig neutralisiert. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert, in überschüssiger heißer verdünnter Schwefelsäure aufgeschwemmt und filtriert. Das Filtrat ließ beim Neutralisieren mit Ammoniak einen spärlichen gelblichen Niederschlag fallen. Er wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und in Salzsäure gelöst. Beim Eindampfen hinterblieben kleine Prismen neben amorphem Rückstand. Dieser Rückstand wurde in Wasser gelöst und unter Alkalizusatz mit Essigäther ausgeschüttelt; eine Base ging über, die beim Abdampfen des Essigäthers in farblosen Kristallen zurückblieb. Sie war in Wasser sehr leicht mit alkalischer Reaktion löslich, ebenso in Essigäther, etwas in Alkohol, kaum in Äther und Petroläther. Mit Platinchlorid bildete sie reguläre Formen, doch in zu geringer Menge.

Zahlreiche Versuche, diese Körper in charakterisierbarer Menge durch Quecksilber oder auch Bleifällung zu isolieren, scheiterten daran, daß sofort nach dem dabei notwendigen Alkalizusatz sich die schon mehrfach erwähnten braunen Zersetzungsprodukte in großen Mengen bildeten; auch die Anwendung einer Kohlensäureatmosphäre bei allen Prozeduren konnte das nicht hintanhalten, ebensowenig das Einführen von Zinnchlorür in das Reaktionsgemisch. — Alkaloidreagentien, besonders Kaliumquecksilberjodid gaben keine Fällung mit einer zersetzten Physostigminlösung.

Wandte ich zur Neutralisation der Schwefel- (oder Salz-) säure nach der Zerstörung des Giftes Ammoniak an, sodaß das Salz in Lösung blieb, so fielen aus der Lösung reichliche bräunliche Flocken aus, die abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet an Gewicht ein Drittel des angewandten Physostigmins betrugten. Diese amorphe braun-violette Masse war nur in konzentrierten Säuren löslich und nicht kristallisiert zu erhalten.

Indessen blieb mir zu eingehenderen Versuchen mit diesem sehr resistenten Produkte keine Zeit.