

## VI.

Aus dem pharmakol. Institut der Kaiserl. Universität Tokio (Japan).

### Experimentelle Untersuchungen über „Cynanchotoxin“, den giftigen Bestandteil des *Cynanchum caudatum* Maxim., und zur Frage der Existenz des „Phytolaccotoxins“.

Von

Dr. med. **K. Iwakawa**, Assistent des Instituts.

#### I. Einleitung.

Das Schlinggewächs *Cynanchum caudatum* Maxim. ist eine in Japan einheimische Asclepiadacee. Die Pflanze wird bei uns „Ikema“ genannt und kommt wild zumeist in kalten und Gebirgsgegenden vor. Ihre Wurzel wird seit alter Zeit als hochgeschätztes Volksmittel, äußerlich gegen schmerzhaft Wunden, Geschwüre und Geschwülste, innerlich gegen „Kakke“ und allerlei Toxikosen, auch gegen verschiedene Erkrankungen der Pferde, in Nordjapan besonders von den „Ainu“, den alten Bewohnern Japans, angewendet.

Wissenschaftlich wurde aber diese Pflanze bis jetzt sehr wenig untersucht. Nur im Jahre 1898 teilte Y. Kunitomo<sup>1)</sup> mit, er hätte in der Wurzel außer Rohrzucker eine kleine Menge einer, Alkaloidreaktionen gebenden kristallinischen Substanz gefunden.

Nachdem ich bei einem Versuch mit dem durch Alkohol aus der Wurzel von *Cynanchum caudatum* erhaltenen Extrakt an einer Maus beobachtet hatte, daß die Vergiftungserscheinungen hauptsächlich aus Anfällen klonischer Krämpfe bestanden, kam ich zu der Überzeugung, daß der wirksame Bestandteil von *Cynanchum caudatum* zu der gleichen Gruppe von Krampfgiften gehört wie das Pikrotoxin, Cicutoxin, Oenanthotoxin usw. und will ihn deshalb Cynanchotoxin nennen.

---

1) Kunitomo, Journal of pharmaceutical society of Japan. Nr. 197.

## II. Chemisches über das Cynanchotoxin.

Als Material für die Darstellung des giftigen Bestandteils habe ich die in den Handel kommende Droge benutzt, welche aus 7—8 cm langen und 2—4 cm dicken Wurzelstücken besteht. Die Länge der ganzen Wurzel beträgt 15—20 cm. Die fein zerschnittene oder pulverisierte Wurzel färbt sich beim Übergießen mit konzentrierter Salzsäure grün.

Aus der getrockneten und pulverisierten Wurzel wurde bei Wasserbadtemperatur ein alkoholischer Auszug bereitet, der Alkohol bei vermindertem Druck abdestilliert, der sirupartige Rückstand mit dem 4fachen Volumen Wasser behandelt, wobei sich eine harzartige Masse abschied, die mit Wasser gründlich gewaschen und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet wurde. Die braune harte Masse wurde im Mörser fein pulverisiert und mehrmals mit Äther ausgezogen, bis die zuletzt zugesetzte Ätherschicht vollständig farblos war. Die vereinigten und filtrierten ätherischen Auszüge wurden mit verdünnter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung versetzt und umgeschüttelt, wobei sich die letztere stark bräunlich färbte, während die wirksame Substanz im Äther gelöst blieb. Dann wurde der abgegossene Äther erst mit Wasser und dann unter tüchtigem Schütteln mit verdünnter wässriger Kalilauge und schließlich so lange mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr alkalisch reagierte. Die ätherische Lösung hinterließ nach der Destillation einen schwach weißgelblichen dicken Sirup, welcher beim Umrühren mit dem Glasstab allmählich erhärtete. Nach dem Eintrocknen im Vacuum über Schwefelsäure wurde diese harte, aber sehr spröde Substanz fein pulverisiert und, um noch zurückgebliebenes Fett zu entfernen, mehrmals mit Petroläther behandelt. Das Pulver wurde schließlich auf dem Filter gesammelt und noch mit Petroläther gründlich gewaschen, bis es fast farblos war.

Das von mir dargestellte Cynanchotoxin bildet ein schneeweißes, amorphes Pulver, welches fast geruch- und geschmacklos ist und an der Luft im Laufe eines Jahres sein Aussehen nicht verändert hat.

Beim Erhitzen im Kapillarrohr fängt es bei etwa  $116^\circ \text{C}$  an etwas zu erweichen, und schmilzt bei  $125^\circ$ — $128^\circ \text{C}$  zu einer gelben Flüssigkeit.

Es löst sich sehr leicht in Methyl-, Äthyl-, Amylalkohol, Chloroform, Äther, Benzol, Eisessig und Essigsäureanhydrid, dagegen ist es unlöslich in Petroläther, Wasser, verdünnten Alkalien und Säuren. Die alkoholische Lösung reagiert fast neutral. Es ist stickstofffrei; alle Bemühungen, es kristallinisch zu erhalten, sind gescheitert.

### III. Pharmakologisches.

Da reines Cynanchotoxin in Wasser sehr schwer löslich ist, wurde es für meine Versuche in Form einer mit Hilfe von Gummi arab. bereiteten Emulsion angewendet.

#### a) Wirkung des Cynanchotoxins an Fröschen.

Injiziert man in den Lymphsack oder die Peritonealhöhle eines Frosches, sei es Esculenta oder Temporaria, pro 10 g Körpergewicht 0.001—0.003 g Cynanchotoxin, so hüpfet das Tier zunächst lebhaft umher, ohne besondere Abweichung von der Norm. Erst nach Ablauf von ungefähr 20—40 Minuten bemerkt man allmählich etwas Abnormes an seiner Bewegung und Körperhaltung. Gegen leise mechanische Reizung, Berühren, Prickeln u. dgl. bleibt das Tier ganz ruhig; der Körper wird aber allmählich von der Unterlage emporgehoben und von den stützenähnlich gestreckten Extremitäten getragen; ab und zu macht das Tier einige langsame, steife, unbestimmte Rückwärtsbewegungen. Wenn man aber auf den Frosch stärkere Reize, Kneifen, Stechen u. dgl. einwirken läßt, so antwortet er darauf mit hastigen, stoßweisen Bewegungen der hinteren Extremitäten, indem dabei die vorderen Extremitäten entweder hintereinander in wackelnde Bewegungen geraten oder steif gestreckt werden, ohne daß der Frosch aber vorwärts kommt.

In diesem Stadium werden die Extremitäten mehr oder weniger gestreckt und an den Gelenken rechtwinklig gestellt; die Schwimmhäute sind stark gespreizt, Rachen und Unterleib werden allmählich aufgebläht. Das Tier atmet etwas unregelmäßig und sperrt zuweilen die Kinnladen stark auf, als ob es nach Luft schnappt. In diesem Zustande verharrt es oft lange Zeit ohne Versuche, sich zu bewegen. Erst im Verlaufe von 15—24 Stunden verfällt es in heftige klonische Krämpfe, die mit fibrillären Zuckungen der Körpermuskulatur beginnen und sich durch starke Abduktion der Beine, Spreizen der Zehen und Opisthotonus des Rumpfes charakterisieren. Oft hört man im Anfang der Krämpfe einen recht lauten langgezogenen Schrei, der aber bei den lange in Gefangenschaft gehaltenen Fröschen nur schwach ist oder vollständig fehlt. Die Krampfanfälle treten mit wechselnden Intervallen ganz spontan auf, doch werden sie auch durch mechanische Eingriffe hervorgerufen.

Mit der Zeit nehmen sie allmählich an Intensität ab und der Ausgang ist meist letal durch allgemeine Paralyse, seltener erfolgt langsam eine Wiederherstellung.

Die Atembewegungen des Frosches sind in der Regel vor dem Ausbruch der Konvulsionen beschleunigt und während derselben unregelmäßig oder sistiert.

Nach zahlreichen Versuchen ist durchschnittlich 0.001 g Cynanchotoxin pro 10 g Frosch die minimale Gabe, welche die charakteristischen Krampfanfälle hervorbringt. Eine kleinere Menge ruft höchstens nur eine eigentümliche, krampfandeutende Körperhaltung hervor und das Tier erholt sich nach einiger Zeit vollständig.

Die Krampfanfälle bei der Vergiftung mit Cynanchotoxin sind denen der Pikrotoxinvergiftung dem Wesen nach ganz gleich. Nur ist die Entwicklung der Vergiftungssymptome bei subcutaner oder stomachaler Applikation des Cynanchotoxins im allgemeinen langsamer und die narkotische Erscheinung als Vorstadium der charakteristischen Krämpfe weniger deutlich als nach Pikrotoxin; bei intraperitonealer Injection sieht man die eigentümliche Körperhaltung erst nach etwa 40 Minuten, den typischen Krampfanfall niemals vor Ablauf von 15 Stunden, meist noch viel später auftreten. Ich habe sogar Fälle beobachtet, in welchen die Konvulsionen erst am dritten Tage der Vergiftung erfolgten.

Außerdem zeichnet sich der Symptomenkomplex dadurch aus, daß er einige Tage lang mit ungeschwächter Intensität andauert. Allgemeine Lähmung und der Tod treten erst am zweiten oder dritten Tage ein.

Eine Lähmung der quergestreiften Muskulatur, wie bei der Toxiresinvergiftung, habe ich bei der Cynanchotoxinvergiftung nicht konstatieren können, die direkte und indirekte Muskelirritabilität ist nach dem Tode des Frosches noch gut erhalten.

#### c) Wirkungen auf das Froschherz.

Die oben beschriebenen Versuche an Fröschen ließen bereits einen Einfluß des Cynanchotoxins auf die Herzaktion nicht verkennen. Besonders auffallend sind die beträchtliche Verminderung der Herzschläge und die zeitweise vorkommenden langdauernden diastolischen Stillstände.

Aus einer Reihe von Versuchen, die am bloßgelegten Froschherzen, teils mit, teils ohne Curarisierung angestellt wurden, ergab sich zunächst, daß die Wirkung des Cynanchotoxins gegenüber der Herzaktion mit den allgemeinen Vergiftungserscheinungen parallel geht.

Werden die Giftmengen von 0.005—0.01 g pro 10 g Frosch subcutan beigebracht, so vermindert sich die Schlagzahl des Herzens allmählich etwa bis zur Hälfte und das Herz steht ab und zu eine

Zeitlang in Diastole still. Da die Zahl der Pulsationen in diesem Stadium durch Atropinisierung für eine Zeitlang sich wieder steigern läßt, so ist anzunehmen, daß diese Verlangsamung der Herzschläge bezw. der diastolische Stillstand des Herzens von der zentralen Reizung des Vagus abhängig sind, wie es bei der Pikrotoxinvergiftung der Fall ist.

Die durch Atropin bewirkte Pulsbeschleunigung dauert nicht lange. Das Herz schlägt wieder langsam. Außerdem sieht man weiter eine Veränderung der Kontraktionsart. Der Ventrikel gerät in mehr oder weniger ausgebildete peristaltische Bewegung und dann sinkt die Zahl der Kammerkontraktionen rasch ab, so daß auf 2—3 Vorhofsschläge eine Kammerkontraktion folgt. Nach Ablauf einer gewissen Zeit steht das Herz bald in Diastole, bald in schlaffem Zustand still, wobei es durch mechanische Reizung noch jedesmal zu einmaliger Kontraktion gebracht werden kann. Der Stillstand des Vorhofs erfolgt erst nach längerer Zeit.

Diese Lähmungserscheinungen sind auf eine direkte Einwirkung des Giftes auf das Herz selbst zurückzuführen, ob auf eine Veränderung der Erregbarkeit des Herzmuskels oder auf die automatischen Nerven, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

#### d) Versuche an Warmblütern.

Die Cynanchotoxinvergiftung habe ich an Mäusen, Kaninchen und Katzen untersucht. Die auffallendsten Vergiftungssymptome sind auch bei Säugetieren die epileptiformen Krämpfe, die viele Stunden, sogar über 2 Tage lang, sich anfallsweise wiederholend, andauern können. Dabei sind Aufregungserscheinungen, wie etwa bei der Kamphervergiftung, nicht zu beobachten, eher bemerkt man eine schwache Depression; dann folgen die Krampferscheinungen: Zuckungen an den Ohren und den Gesichtsmuskeln, Zittern der Extremitäten; dazu kommen: Harn- und Kotentleerung bei Katzen, Salivation und Erbrechen. Nach einer Zeit verfällt das Tier plötzlich in die heftigsten, klonischen Krämpfe, die ganz spontan ausbrechen. Während der Krämpfe ist die Temperatur im Rektum bedeutend herabgesetzt. Zu Anfang der Vergiftung ließ sich eine leichte Verengung der Pupillen konstatieren, im Krampfstadium dagegen waren sie stets etwas erweitert. Anzeichen einer gesteigerten Reflexerregbarkeit waren während des ganzen Verlaufes der Vergiftung nicht vorhanden. Der Tod erfolgt schließlich unter Erschöpfung durch Atemstillstand. Das Vergiftungsbild ist bei allen von mir benutzten Tierarten im wesentlichen das gleiche und stimmt mit dem der Pikrotoxinvergiftung völlig

überein, so daß das Cynanchotoxin in die Gruppe des Pikrotoxins gehört.

Die Ergebnisse meiner Versuche seien hier übersichtlich zusammengestellt:

| Ver-<br>suchs-<br>Nr. | Tierart             | Körper-<br>gewicht | Gift-<br>menge<br>g | Appli-<br>kationsart | Der erste<br>Krampfanfall<br>trat auf nach | Ausgang                     |
|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------|--|-----------------------------|
| IX                    | Maus                | 15,0               | 0,003               | intraperitoneal      | 40 Min.                                    | Tod nach 2 Stund.           |
| X                     | "                   | 13,0               | 0,001               | "                    | 55 "                                       | Nach 18 St. tot<br>gefunden |
| XI                    | "                   | 11,0               | 0,0005              | "                    | Kein ausge-<br>bildeter<br>Krampfanfall    | Erholung                    |
| XII                   | "                   | 11,0               | 0,0015              | subcutan             | 21 St.                                     | Erholung                    |
| XIII                  | "                   | 16,0               | 0,0035              | "                    | 5 "  | Am 3. Tage tot<br>gefunden  |
| XIV                   | Kaninchen<br>männl. | 780,0              | 0,0035              | intravenös           | 17 Min.                                    | Erholung                    |
| XV                    | weibl.              | 1100,0             | 0,152               | per os               | 30 "                                       | Erholung                    |
| XVI                   | Katze weibl.        | 1150,0             | 0,3                 | subcutan             | 9 St.                                      | Tod nach 27—29 St.          |

### Über das Phytolaccotoxin.

Im Jahre 1891 wurde die Wurzel der japanischen Kermesbeere, *Phytolacca acinosa* Roxb. var. *esculenta* Maxim., als Diureticum von S. Kashimura<sup>1)</sup> warm empfohlen und N. Nagai<sup>2)</sup> isolierte daraus als wirksamen Bestandteil einen harzartigen, chemisch indifferenten Körper, dessen Wirkung D. Takahashi und Y. Inoko<sup>3)</sup> im hiesigen Laboratorium an Warmblütern untersuchten und die Substanz wegen ihrer pikrotoxinähnlichen Wirkung und des Namens der Mutterpflanze „Phytolaccotoxin“ nannten. Ein Teil dieses Präparates ist bei uns wohl erhalten und bildet eine rötlichbraune Masse.

Aber seither sind die Bemühungen einiger Forscher, das Krampfgift der Kermeswurzel nach Nagai zu isolieren, wie ich persönlich erfahren habe, stets gescheitert. Ich habe selbst vergeblich versucht, nach dem von Nagai angegebenen Verfahren die in Petroläther unlösliche, harzähnliche Substanz, d. h. das Phytolaccotoxin, aus der frischen

1) Kashimura, Pharm. Journ. and Trans. 1891.

2) N. Nagai, Journ. of pharm. society of Japan. Nr. 98. 1891.

3) D. Takahashi und Y. Inoko, Mitteil. d. med. Gesellsch. Tokio, Bd. VI, 1893.

Wurzel der *Phytolacca acinosa* sowie auch aus dem officinellen *Phytolacca*extrakt darzustellen. So ist die Existenz des *Phytolaccotoxins* in der *Phytolacca acinosa* bis jetzt recht zweifelhaft geblieben, und wird sogar von einigen Autoren direkt geleugnet.

Nach der Beschreibung der *Phytolaccawurzelvergiftung*, die bei uns an Menschen leider ziemlich häufig in schweren, ja selbst tödlich verlaufenden Formen vorkam und noch jetzt ab und zu vorkommt, wegen des unvorsichtigen Gebrauchs der Wurzel gegen Kakke als Volksmittel, treten die Erscheinungen von *Gastroenteritis acuta*, mit blutiger *Diarrhoe* und Benommenheit des *Sensoriums* in den Vordergrund, während die Krämpfe stets vermißt worden sind.

Die Wurzel der ausgewachsenen Pflanze von *Phytolacca acinosa* ist makroskopisch der des *Cynanchum caudatum* äußerst ähnlich, so daß es nicht leicht ist, beide nur durch ihr äußeres Aussehen voneinander zu unterscheiden. Die getrockneten Wurzeln der beiden Drogen werden im Handel sehr oft verwechselt. Die *Cynanchum*-wurzel läßt sich allerdings von der *Phytolaccawurzel* durch den schwach bitteren Geschmack, die grünliche Färbung des Pulvers durch Salzsäuredampf und durch das mikroskopische (granulierte) Bild der Querschnittsfläche leicht unterscheiden. Die Wurzel der *Phytolacca acinosa* ist geschmack- und geruchlos und hat die charakteristischen Ringzonenbildungen an der Querschnittsfläche.

Nach dem oben gesagten ist die von Shimoyama in seinem Kommentar zur japanischen Pharmakopoe ausgesprochene Vermutung sehr wohl zulässig, daß das *Phytolaccotoxin* nicht in *Phytolacca acinosa*, sondern in *Cynanchum caudatum* enthalten ist; und es ist sehr wahrscheinlich, daß die früher als *Phytolaccotoxin* beschriebene Substanz identisch mit dem neuen Stoffe ist, den ich aus der Wurzel des *Cynanchum caudatum* isoliert und *Cynanchotoxin* genannt habe.

Meine Substanz bildet ein ganz schneeweißes, feines Pulver; der Schmelzpunkt liegt höher als der für das *Phytolaccotoxin* angegebene, die übrigen chemischen Eigenschaften sind aber die gleichen und das von mir oben beschriebene Vergiftungsbild stimmt vollkommen mit dem überein, welches Takahashi und Jnoko bei der *Phytolaccotoxinvergiftung* an Hunden, Katzen, Kaninchen und Tauben beobachtet haben.

Daher glaube ich mich berechtigt, anzunehmen, daß das angebliche *Phytolaccotoxin* aus der Wurzel von *Cynanchum caudatum* stammte und *Cynanchotoxin* war.

### Zusammenfassung der Resultate.

1. Das Cynanchotoxin aus der Wurzel von *Cynanchum caudatum* ist eine amorphe, farblose, neutrale stickstofffreie Substanz. Das Phytolaccotoxin, welches als wirksamer Bestandteil der *Phytolacca acinosa* angegeben war, stammt allen Umständen nach aus dem *Cynanchum caudatum* und ist Cynanchotoxin.

2. Seinem Wesen nach gehört das Cynanchotoxin in die Gruppe des Pikrotoxins. Es verursacht an Fröschen in Gaben von 0,001—0,003 g pro 10 g Körpergewicht nach vorausgehenden schwachen Depressionserscheinungen erst unkoordinierte Bewegungen und dann die charakteristischen konvulsivischen Krampfanfälle. Zwischen den beiden Froscharten *R. esculenta* und *R. temporaria* besteht kein Unterschied in bezug auf die Vergiftungserscheinungen.

Die Verlangsamung der Herztätigkeit und der diastolische Herzstillstand während der Krämpfe hängen von einer Erregung der Ursprünge der herzhemmenden Nervenfasern im Gehirn ab, wie beim Pikrotoxin; dann folgt eine Schädigung oder Unterdrückung der Herztätigkeit hauptsächlich infolge der Lähmung der automatischen motorischen Herznerven.

3. An Warmblütern beherrschen die heftigen konvulsivischen Krampfanfälle mit ihren eigenartigen Galopp- und Schwimmbewegungen der Extremitäten das Vergiftungsbild. Die minimale krampferregende Gabe beträgt bei der Einspritzung in die Venen pro kg Kaninchen 0,040 g, die Letalgabe 0,055 g. Bei der Einführung in den Magen ist dazu die dreifache Gabe erforderlich.

An der Katze führten bei subcutaner Injection 0,2 g pro kg Körpergewicht den Tod nach 30 Stunden herbei. An der Maus sind pro 10 g Körpergewicht bei subcutaner Applikation 1,4 mg, bei der Einspritzung in das Blut 0,5 mg erforderlich, um die Krampfanfälle hervorzurufen.

---