

IV.

Aus dem pharmakologischen Institut zu Marburg.

Beiträge zur Kenntniss der Hutpilze in chemischer und toxikologischer Beziehung.

I. *Boletus luridus*.¹⁾

Von

Prof. R. Boehm.

Boletus luridus (Schäffer²⁾), Basidiomycetes; Polyporei, (Löcherpilze), gehört zu den in ganz Europa häufig vorkommenden Hutpilzen. Er ist leicht zu erkennen an der intensiv düsterrothen Färbung seiner Röhrenmündungen und des dicken, oft kugeligen Strunkes sowie an der heller oder dunkler lederbraunen Farbe des polsterförmigen, etwas filzigen Hutes, erreicht oft beträchtliche Grösse und findet sich sowohl in Laub- als Nadelhölzern von Anfang August an bei wärmerer Witterung bis in den November hinein.

1) Einen Theil der Resultate nachstehender Arbeiten habe ich bereits vorläufig in den Sitzungsberichten der Gesellschaft zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg. Juni 1883. Nr. 2 mitgetheilt.

2) Lüerssen, Handbuch der systematischen Botanik. I. Band. Kryptogamen. Leipzig 1879, gibt folgende Beschreibung:

Polyporei. 10. *Boletus*.

II. Röhren lebhaft gefärbt, meist gelb, im Alter oft grünlich, zuweilen an der Mündung roth: *Euchroi*. Fr.

A. Stiel knollig oder bauchig aufgetrieben, im Alter oft schlanker.

1. Mündungen der Poren roth, daher die Röhrenschicht oberflächlich roth gefärbt. Röhrenschicht gegen den Stiel gerundet; frei.

a) Hut filzig, bei feuchtem Wetter etwas schmierig, oliven- bis umbrabraun, convex, 6—20 cm und mehr breit. Stiel bis 12 cm hoch, bis 8 cm dick, mennigroth, roth genetzt oder punctirt, Fleisch gelblich, im Bruche blau. Im Sommer und Herbste in Wäldern; giftig. *Boletus luridus*, Schäff. (Hexen-, Schuster-, Donner- oder Judenpilz).

Boletus rubeolarius. Bulliard. *B. mutabilis*. Schultes.

Die Erscheinung, dass das auf dem frischen Bruche gelbe Fleisch des Hutes und Strunkes, sowie die grünlich gelben, nur an der Mündung rothen Röhren an der Luft sich sofort lebhaft indigblau färben, hat *Boletus luridus* zwar mit mehreren anderen Hutpilzen gemein, sie ist aber bei ihm durch die Intensität und Raschheit des Farbenwechsels besonders auffallend.

Ueber die Frage, ob *Boletus luridus* giftig sei oder nicht, finden sich in der Literatur abweichende Angaben. Lenz¹⁾, welcher zuerst den von früheren und späteren Autoren als Varietät des *Boletus luridus* betrachteten *Boletus Satanas*, (*B. sanguineus*. Krombholz) als besondere Art aufstellte, ist der Ansicht, dass Alles das, was frühere Autoren, wie Paulet, Trattinick und Roques, von giftigen Wirkungen des *Boletus luridus* angeben, sich auf den Satanspilz beziehe, den man früher nicht vom Hexenpilze unterschied. Bei späteren Schriftstellern, welche beide Pilze von einander unterscheiden, finde sich nicht ein Beispiel, wo sein Genuss böse Folgen gehabt haben sollte. Krombholz, welcher ihn mit Lenz als eigene Art betrachtet, gibt an, dass der Pilz in Wien unter dem Namen Schuster, in Prag als Kowär (Schmied) zu Markte gebracht werde. Krombholz²⁾ bezeichnet ihn als verdächtig und meint, dass er schon wegen seiner leicht möglichen Verwechslung mit dem Satanspilze nicht auf dem Markte geduldet werden sollte. Lenz citirt ausserdem eine Angabe des Professor Marquardt in Olmütz aus dem Jahre 1856, wonach die Sorte mit genetischem Stamme auch in Brünn und Olmütz zahlreich zu Markte kommt und auch die von Einzelnen als gesonderte Varietät (*Boletus erythropus*) bezeichnete Sorte mit ungenetztem Stamme genossen wird. Lenz fährt fort: „Ich selber kenne in jener Gegend vornehme Familien, welche ihn zu essen pflegen, habe ihn auch hier zu Lande ohne allen Nachtheil gebraten in voller Portion verzehrt. — Aber dennoch rathe ich, ihn von Küche und Mund fern zu halten, weil er leicht mit dem Satanspilz verwechselt werden kann. — Hirten hiesiger Gegend behaupten vom Hexenpilz, dass er von Schafen und Kühen gierig, oft in Massen, aber immer ohne Schaden gefressen wird.“

Husemann³⁾ nennt *Boletus luridus* den eigentlichen Giftpilz dieser Gattung, wobei er allerdings *Boletus Satanas* nicht als eigene

1) Die Schwämme. 6. Auflage, bearb. von Dr. O. Wünsche. Gotha 1879.

2) Naturgetreue Abbildungen und Beschreibungen der essbaren, schädlichen und verdächtigen Schwämme. Prag 1831. V. Heft. S. 17.

3) Boudier-Husemann, Die Pilze in ökonomischer, chemischer und toxikologischer Hinsicht. Berlin 1867.

Art, sondern nur als Varietät von *B. luridus* gelten lässt, und hält es in keiner Weise für erwiesen, dass alle hierher gehörigen Vergiftungen durch *Boletus Satanas* allein veranlasst seien. Indessen finden sich doch auch bei Husemann, der die einschlägige Literatur genau berücksichtigt, keine Vergiftungsfälle mitgetheilt, welche mit voller Sicherheit auf *Boletus luridus* zu beziehen wären.

In Italien habe ich selbst *B. luridus* im Albanergebirge in der Nähe Roms in zahlreichen, schönen Exemplaren angetroffen. Auf dem Markte in Rom, wo viele andere Pilze in grossen Mengen verkauft wurden, habe ich ihn nicht gefunden, und die Gebirgsbewohner, welchen ich diesen Pilz vorzeigte, bezeichneten ihn als ungeniessbar.

In hiesiger Gegend (Hessen) wird der Pilz nicht gegessen. Selbstgesammelte Exemplare fand ich aber fast regelmässig von kleinen Nagern (Eichkätzchen und Hasen) angefressen.

Auch in hiesiger Gegend kommt sowohl die Varietät mit genetischem, als auch die mit ungenetztem Stamme (*B. erythropus*), letztere häufiger vor.

Dass der Pilz auf keinen Fall stark giftig sein kann, davon habe ich mich mehrmals durch orientirende Vorversuche überzeugt, wobei ich mehrere ganz frische Exemplare sowohl der genetischen als auch der ungenetzten Varietät Hunden per os beibrachte. Die Thiere frassen die Pilze mit etwas Milch angerührt gierig auf und keiner derselben zeigte auch nur eine Spur von Vergiftungserscheinungen.

Um nun aber zu einem sicheren Urtheile über die Eigenschaften und Bestandtheile dieses Pilzes zu gelangen, habe ich die genauere chemische Untersuchung desselben vorgenommen und theile nachstehend die Ergebnisse derselben mit.

Ueber frühere, mit *Boletus luridus* angestellte chemische Untersuchungen habe ich nur in Husemann's Pflanzenstoffen. II. Auflage einige Notizen gefunden. Hier wird mitgetheilt, dass Almén (Upsala Läk. Forhandl. 2. 274) aus *Boletus luridus* durch Fällung mit phosphormolybdänsaurem Natrium ein vermeintliches, sicher von Muscarin verschiedenes Alkaloid erhalten habe, das sich in Chloroform löste und in langen feinen Nadeln krystallisirte. Näheres über diesen Körper wird nicht angegeben.

Weiter theilen Husemann und Hilger mit, dass Pipson in *Boletus luridus* und *Boletus cyanescens* einen Anilinfarbstoff nachgewiesen zu haben glaube, der indessen nach Cuigier (Gaz. chimic. 7. 4) eine Säure ist, die mit Ammoniak azurblau, mit Jod grünlichbraun gefärbt wird. Dass nicht, wie es weiter heisst, die Polypor-

säure Stahl Schmid's die Ursache dieser Färbung sein kann, werde ich unten durch eigene Untersuchungen darthun.

Meine eigenen Untersuchungen erstrecken sich auf 4 Jahre und mussten naturgemäss, da frisches Material nur während einer kurzen Zeit des Jahres zu haben ist, häufige Unterbrechungen erfahren. Im Jahre 1881 habe ich 1 Kilo, 1882 3,8 Kilo, 1883 10 Kilo trockener, 1884 noch je 8 Kilo und 25 Kilo frischer Pilze verarbeitet, die von verschiedenen Standorten entnommen, zum Theil selbst gesammelt, zum Theil von kundigen Sammlern geliefert waren.

Der Gang der Untersuchung war folgender:

Die Pilze wurden entweder im getrocknetem oder in frischem Zustande verarbeitet.

Im ersteren Falle wurde das frische Material zerschnitten, bei Ofenwärme möglichst rasch getrocknet und hierauf in der Pulvermühle gepulvert.

Im letzteren Falle liess ich die frischen Pilze in der Fleischhackmaschine zerkleinern und sofort in einem grossen Ballon mit 90° Spiritus übergiessen, in dem Verhältnisse, dass auf 1 Gewichtstheil der Pilze 1½ Gewichtstheile Spiritus kamen. Da Vorversuche gezeigt hatten, dass die Pilze sehr reich an Fett und harzartigen Körpern sind, so wurde das trockene Pilzpulver zuerst in einem grossen Mohr'schen Aetherextractionsapparat mit Aether erschöpft, was bei der Zweckmässigkeit dieses Apparates mit geringem Aetheraufwand möglich war.

Sobald der Aether aus dem Extractionsgefässe nahezu ungefärbt abtropfte, wurde das durch Destillation von zurückgehaltenem Aether befreite, trockene Pilzpulver in mehreren grösseren Deplacirungsgefässen mit 90° Weingeist extrahirt, bis derselbe nahezu farblos abfloss.

Von den vereinigten alkoholischen Tincturen wurde durch Destillation der Weingeist abgezogen, der Destillationsrückstand hierauf eventuell nach Zusatz kleiner Mengen Wasser in grossen Porcellanschalen noch so lange eingedampft, bis sich das reichlich vorhandene Harz von der wässrigen Flüssigkeit in Klumpen absetzte, und schliesslich von dem Harz abfiltrirt. Die Filtrate schieden, in einer Schale während einer Nacht in den Keller gestellt, in der Regel grosse Mengen von Mannitkrystallen ab, von welchen die Mutterlauge am nächsten Morgen bequem abgegossen werden konnte.

Die so erhaltenen, dunkelrothbraunen Flüssigkeiten reinigte ich zunächst durch Ausfällen mit Bleiessig. Die sehr voluminösen, gut ausgewaschenen Bleiniederschläge wurden aufbewahrt, die gesam-

melten Filtrate durch Schwefelwasserstoff von Blei befreit, zum dünnen Syrup eingedampft und, wie weiter unten angegeben, auf Alkaloide verarbeitet.

Soweit es nothwendig erscheint, werden nähere Angaben über die Methode der Darstellung bei den einzelnen Stoffen mitgetheilt werden.

1. Die Bestandtheile des ätherischen Extractes.

Das im Mohr'schen Extractionsapparate erhaltene ätherische Extract stellte nach dem Abdestilliren des Aethers einen dunkelpurpurrothen Syrup dar, welcher nach längerem Stehen in der Kälte zu einem Brei von Krystallen erstarrte. Es gelang, die Krystalle zum grössten Theil durch Filtriren von der syrupös-fettigen Mutterlauge zu trennen, aus welcher nach längerem Stehen wiederholt neue Krystallmengen erzielt wurden.

Die auf dem Filter gesammelte Krystallmasse wusch ich mit kaltem Weingeist von 95°, bis sie nur noch wenig gefärbt erschien, und übergoss sie sodann auf einem Heisswassertrichter mit kochendem absolutem Alkohol. Die abfliessende alkoholische Lösung erstarrte beim Erkalten zu einem schneeweissen Brei mikroskopischer Krystalle, welche aus dünnen sechsseitigen Täfelchen von schönem Seidenglanze bestanden und sich dadurch charakteristisch von Cholestealinkrystallen unterschieden, dass 2 Ecken der rhombischen Tafel abgeschnitten erschienen. Durch wiederholtes Umkrystallisiren aus kochendem Weingeist wurde dieser Körper zuletzt rein in der Menge von 15,0 g aus 8 Kilo Pilzpulver erhalten. In den Mutterlaugen mag noch etwa die Hälfte dieser Menge zurückgeblieben sein.

Die reine Substanz zeigte folgende Eigenschaften:

Sie löst sich schwierig in kaltem, leicht in kochendem absolutem Alkohol, ziemlich leicht in Aether (um so langsamer, je reiner sie ist, rascher bei Verunreinigung mit Fett), in Chloroform, Essigäther, Eisessig und Petroleumäther, wenig in Benzol, gar nicht in Wasser. Auf dem Platinblech verbrennt sie unter Ausstossung empyrheumatischer Dämpfe ohne Rückstand.

Die elementaranalytische Untersuchung dieses, sowie der übrigen im Verlaufe meiner Arbeiten isolirten Körper verdanke ich Herrn Dr. Richard Külz, welcher die Analysen mit der Erlaubniss meines verehrten Collegen E. Külz im Marburger physiologischen Institute ausführte.

Es ergab sich zunächst, dass die Substanz noch geringe Mengen

von Fett enthielt, welche durch wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem Eisessig nahezu vollständig beseitigt werden konnten.

Der Schmelzpunkt der so gereinigten Krystalle lag bei 144—145°.

Die Analyse der im Vacuum getrockneten Substanz ergab:

1.	2.
C 83,40	83,59 Proc.
H 11,28	11,17 =

Sowohl nach ihren äusseren Eigenschaften als auch dem Schmelzpunkte und den Ergebnissen der Analyse nach steht also die fragliche Substanz dem Cholesterin sehr nahe. Der Schmelzpunkt des letzteren liegt nach Goble und Hesse (cit. bei Beilstein) bei 145—146°.

Die Formel des Cholesterins $C_{26}H_{44}O$ verlangt:

berechnet	erhalten (im Mittel)
C 83,87	83,49
H 11,82	11,22

Abweichend vom Cholesterin ist die Krystallform; auch im reinsten Zustande wurde der Körper stets in Form der oben beschriebenen 6-seitigen Täfelchen, niemals in Form der bekannten Rhomben des Cholesterins erhalten.

Auch in ihren Reactionen stimmte die Substanz nicht ganz mit dem Cholesterin überein.

Wurde eine Auflösung derselben in Chloroform mit concentrirter Schwefelsäure im Reagensglase gemischt, so färbte sich nur die Säureschicht dunkelbraunroth, das Chloroform blieb beinahe farblos, während es sich beim Chloesterin blutroth färbt. Mit Salpetersäure auf einem Porcellandeckel eingedampft und mit Ammon befeuchtet, nahm der Rückstand eine etwas schmutzig orangegelbe Farbe an, während auch hier beim Cholesterin Rothfärbung eintritt.

Man kann sonach die Substanz offenbar nicht als identisch mit dem Cholesterin ansehen, wenn sie demselben auch sehr nahe stehen muss.

Bei dem mangelnden pharmakologischen Interesse habe ich diesen Gegenstand nicht weiter verfolgt, möchte aber darauf hinweisen, dass nach meinen anderweitigen Untersuchungen auch andere Pilze ähnliche cholesterinartige Körper in reichlicher Menge enthalten, welche eine genauere Untersuchung von chemischer Seite verdienen.

Sowohl das frische ätherische Extract als auch die Mutterlaugen des cholesterinartigen Körpers haben einen eigenthümlich angenehmen Geruch.

Zur Isolirung etwa vorhandener ätherischer Oele wurde daher

die Mutterlauge mit Wasserdämpfen der Destillation unterworfen. Es destillirte eine milchig getrübte, stark sauer reagirende Flüssigkeit über, aus welcher durch Ausschütteln mit Aether ca. 1,0 g eines in der Kälte krystallinisch erstarrenden, beinahe farblosen Oeles erhalten wurde, welches einen sehr intensiven, lange haftenden, etwas an Honig erinnernden Geruch besass. Zu einer genaueren Untersuchung war die erhaltene Menge nicht ausreichend.

Der Rest des ätherischen Extractes besteht aus verseifbaren Fetten und einem braunen Weichharze.

2. Die Bestandtheile des alkoholischen Extractes.

Wie die ätherischen, so zeigen auch die alkoholischen Auszüge der getrockneten Pilze eine intensiv purpurrothe Farbe.

Beim Abdestilliren des Weingeistes von den gesammelten Tincturen nimmt das Destillat gegen das Ende der Operation immer eine bläuliche oder gelbliche Farbe und deutlich saure Reaction an. Bei der Fällung der in der oben angegebenen Weise von Harz und einem grossen Theil des Mannits befreiten Rückstände des alkoholischen Auszuges mit Bleissig entsteht ein sehr voluminöser, anfangs etwas schmutzig brauner, später schön lebhaft orangerother Niederschlag. Da ich diese Bleiniederschläge weiter verarbeiten wollte, so nahm ich die Fällung gewöhnlich in zwei Fractionen vor, wovon die zweite die Bleiverbindungen in reinerem Zustande lieferte. Die Bleiniederschläge habe ich auf dem Filter oder bei der Verarbeitung grösserer Quantitäten in der Filterpresse gesammelt und gut mit Wasser ausgewaschen, hierauf bei gelinder Wärme getrocknet, gepulvert und das olivengrüne Pulver zunächst so lange mit heissem Weingeist von 95° extrahirt, als dieser sich dabei gelb färbte. Es geht so eine reichliche Menge von Harz in Lösung, welches bei der Bleifällung mitgerissen wird. Zusatz von Wasser zu den weingeistigen Waschflüssigkeiten der Bleiniederschläge bewirkt eine starke milchige Trübung.

Aus den so gereinigten Bleiniederschlägen lässt sich nun in sehr einfacher Weise eine interessante Substanz isoliren, für welche ich den Namen Luridussäure vorschlagen möchte.

Man bringt behufs ihrer Darstellung die möglichst trocknen und feingepulverten Bleiverbindungen in einen geräumigen Kolben und befeuchtet sie darin mit so viel verdünnter Schwefelsäure, dass ein dicker, zähflüssiger Teig entsteht. Hierauf schüttelt man wiederholt mit grösseren Mengen absoluten Aethers aus.

Aus den dunkelpurpurrothen ätherischen Lösungen krystallisiren beim freiwilligen Verdunsten zu Büscheln und Sphäroiden vereinigte prachtvoll bordeauxrothe Nadeln und Prismen in reichlicher Menge aus. Man reinigt dieselben durch wiederholtes Umkrystallisiren aus destillirtem Wasser, worin sie um so langsamer sich lösen, je reiner sie sind. Zuletzt erhält man durch Verdunsten der wässrigen Lösung im Vacuum über Schwefelsäure eine nur wenig hygroskopische, bordeauxrothe Krystallmasse, die sich an der Luft auch nach jahrelangem Stehen nicht verändert.

Die Farbe der Krystalle der Luridussäure erinnert sofort an die Färbung der Porenöffnungen und des Stieles des frischen *Boletus luridus*, und es unterliegt keinem Zweifel, dass diese Säure dem natürlich in diesem Pilze vorkommenden Farbstoffe entspricht.

Dieser Körper fesselte um so mehr mein Interesse, als er auch unter bestimmten Bedingungen genau dieselben Farbenveränderungen erkennen lässt, welche das frische Fleisch des Pilzes bei Luftzutritt erfährt.

Die wässrige Lösung der Luridussäure ist auch in stärkster Concentration nie eigentlich roth, sondern tief gelbroth, in stärkerer Verdünnung strohgelb.

Versetzt man im Reagensglase eine kleine Menge der sehr verdünnten wässrigen Lösung vorsichtig mit einem Tropfen Natriumcarbonatlösung, so entsteht nach einiger Zeit zuerst eine prachtvoll smaragdgrüne Färbung, die allmählich in reines tiefes Indigblau übergeht. Neutralisirt man jetzt vorsichtig mit verdünnter Schwefelsäure, so wird die Lösung purpurroth. Lässt man sie, ohne zu neutralisiren, ruhig an der Luft stehen, so verwandelt sich die tiefblaue Farbe allmählich in schmutzig Grünbraun.

Aehnliche, wenn auch bei Weitem nicht so prachtvolle Farbenscalen erhält man durch Zusatz von Ammoniumcarbonat. Kaustische Alkalien zersetzen den Farbstoff sehr rasch. Mit Jodtinctur versetzt, färbt sich die wässrige Lösung schön dunkelblau. Auf Zusatz von concentrirter Salpetersäure erfolgt eine lebhafte Reaction und die Flüssigkeit nimmt eine tief rein kirschrothe Farbe an, welche erst nach längerem Stehen an der Luft verschwindet.

Dem chemischen Verhalten nach ist der Farbstoff eine schwache Säure; verdünnte wässrige Lösungen röthen intensiv blaues Lackmuspapier. Bleiacetat, neutrales wie basisches, fällen die Säure in Gestalt eines feucht schön orangerothern, trocken olivengrünen amorphen Pulvers, das in Wasser, Spiritus, Chloroform und Aether unlöslich ist, während sich die freie krystallisirte Luridussäure in fast allen

Lösungsmitteln leicht und stets mit gelber Farbe auflöst. Die Lösung schmeckt widerlich adstringirend. Die Säure hat einen eigenthümlichen, unangenehmen Geruch; ihre Lösungen färben die Epidermis lange dauernd gelb; erst nach einigen Tagen verschwindet die Tinction, welche Wasser und Seife nicht wegnehmen.

Kupferacetat erzeugt einen schmutzig braunen Niederschlag, aus welchem ich die Säure nicht mehr rein zu erhalten vermochte. Auch die Darstellung anderer Verbindungen ist mir bisher noch nicht gelungen. Baryt, Kalkhydrat und kohlensaure Alkalien wirken in kurzer Zeit, auch schon bei gewöhnlicher Temperatur zersetzend.

Die Luridussäure scheint auch schon bei gewöhnlicher Temperatur etwas flüchtig zu sein. Bei der Aufbewahrung über Schwefelsäure nimmt letztere schon nach kurzer Zeit eine intensiv gelbe Farbe an.

Auf die Flüchtigkeit in der Wärme deutete zunächst schon die beim Abdestilliren der alkoholischen Auszüge auftretende Gelb- und Blaufärbung des Destillates hin.

Bei stärkerem Erhitzen beginnt die Luridussäure bei 155° zu schmelzen, ist aber erst bei 170° ganz flüssig und färbt sich dann dunkler, indem gleichzeitig weisse Krystalle sublimiren und der stechend brenzliche Geruch der Bernsteinsäure auftritt. Die sublimirten Krystalle lösen sich in Wasser mit stark saurer Reaction und geben ein krystallinisches Bleisalz, welches sich dem bernsteinsäuren Blei ähnlich verhält und über dessen Analyse ich in Bälde nach Beschaffung einer grösseren Menge das Erforderliche nachtragen zu können hoffe.

Vorläufig kann man wenigstens mit der grössten Wahrscheinlichkeit in der sublimirenden Säure Bernsteinsäure vermuthen.

Auch beim Erhitzen auf 200° findet noch nicht totale Zersetzung der Luridussäure statt. Die Kohle gibt an Alkohol noch reichliche Mengen unzersetzter Säure ab.

Die Elementaranalyse der im Vacuum getrockneten Säure ergab:

1.	2.
C 48,26 Proc.	48,80 Proc.
H 4,77 "	4,21 "

Stickstoff ist nicht vorhanden.

Auf die Aufstellung einer Formel glaube ich vorläufig noch verzichten zu müssen, bis die noch im Gange befindlichen Untersuchungen mit einer grösseren Menge des Körpers abgeschlossen sind.

Da sich die wässrige, stark verdünnte Lösung der Luridussäure mit Eisenchloridlösung schön purpurviolett färbt, so haben wir es

wahrscheinlich mit einem den Phenolen nahestehenden Körper der aromatischen Reihe zu thun. Jedenfalls ist nach Vorstehendem nicht daran zu denken, dass der Farbstoff des *Boletus luridus* etwas mit der Polyporsäure Stahlschmidt's zu thun hat. Auch die früher von Schönbein (Verhandl. der naturforsch. Gesellschaft zu Basel, 1857. I. S. 351) ausgesprochene Vermuthung, dass der die Blaufärbung des *B. luridus* an der Luft bedingende Körper ein dem Quajakharz ähnliches Harz (Pilzharz) sei, erledigt sich nach obigen Angaben. Was die Farbenveränderung betrifft, so ist sie wohl ohne Zweifel auf Oxydationsvorgänge zurückzuführen.

Pharmakologisch scheint Luridussäure nach meinen bisherigen, allerdings nur mit kleinen Mengen angestellten Versuchen kein hervorragendes Interesse zu bieten. Das Befinden von Hunden wurde durch subcutane Einspritzung von 0,05—0,2 nicht alterirt. Ich hoffe, auch über diesen Punkt in Bälde ausführlicher berichten zu können.

Die, wie oben angegeben, weiter verarbeiteten Filtrate der Bleiniederschläge gaben mit Ausnahme von Platinchlorid und Goldchlorid mit allen Alkaloidreagentien voluminöse Fällungen.

Um zu sehen, ob sie einen giftigen Bestandtheil enthielten, wurde zunächst ein Thierversuch angestellt, dessen Protokoll anbei folgt.

Am 8. December 1881 erhält eine Katze 3 ccm des zum dünnen Syrup eingedampften, mit Bleiessig gereinigten alkoholischen Extractes von *Boletus luridus* subcutan injicirt.

Wenige Minuten nach der Injection erst feste, dann in kurzen Intervallen noch 4 dünnflüssige Kothentleerungen. Hierauf profuser Speichelfluss und mühsame Respiration mit starkem Schleimrasseln. Im Laufe der folgenden Stunde besteht entschiedene Dyspnoe und erfolgen noch mehrere dünne Darmentleerungen. Motilität nicht gestört. Salivation und Dyspnoe schwinden im Verlaufe der zweiten Stunde, während später noch mehrmals Durchfälle auftraten. Die Pupillen waren nicht verengert.

Die vorstehende Beobachtung entsprach einer, wenn auch schwachen, so doch unverkennbaren Muscarinwirkung. Es wurde daher die Isolirung von Basen aus dem gereinigten alkoholischen Extracte versucht. Zahlreiche Versuche liessen hierzu das folgende Verfahren als das zweckmässigste erscheinen.

Will man zuverlässig reine und farblose Präparate erzielen, so ist es unerlässlich, das bereits durch Bleiessig gereinigte, zum dünnen Syrup eingedampfte, weingeistige Extract noch energisch mit guter Thierkohle zu schütteln. Während vor dieser Operation das Extract mit Kaliummercurijodid in der Regel eine schmutzig graue, käsige Fällung gibt, erzeugt dieses Fällungsmittel nach gehörigem Schütteln des Extractes mit Thierkohle und Abfiltriren von derselben einen

goldgelben, oft unmittelbar krystallinischen Niederschlag. Die Ausbeute an Basen wird dadurch wenig beeinträchtigt, wenn man nicht zuviel Thierkohle verwendet und letztere 4—5 mal mit kleinen Wassermengen auswäscht.

Zur Fällung der Basen diente eine höchst concentrirte Lösung von Kaliummercurijodid mit Ueberschuss von Mercurijodid, in welcher Verdünnen mit Wasser sofortige Abscheidung von rothem Mercurijodid erzeugt. Bei der Anwendung dieses concentrirten Reagens fallen die Basen zum grössten Theil sofort als Mercurijodiddoppelverbindungen.

Zusatz von Säuren, wie Schwefelsäure oder Salzsäure, zu der zu fällenden Flüssigkeit halte ich nicht für zweckmässig. Säuert man nach der Ausfällung mit Kaliummercurijodid die Filtrate mit Schwefelsäure oder Salzsäure stark an und setzt von Neuem Fällungsmittel hinzu, so entsteht zunächst eine starke milchige Trübung und nach längerem Stehen scheiden sich auf dem Boden und an den Wänden der Gefässe braune, harzartig zähe Massen ab, welche wohl noch kleine Mengen Basen enthalten, aber zum grössten Theile aus stickstoffhaltigen Zersetzungsproducten bestehen, deren Fällung man durch Vermeidung von Säurezusatz umgehen kann.

Ich habe gefunden, dass es zweckmässig ist, die auszufällenden Flüssigkeiten in kleineren Portionen von ca. 150 ccm in Bechergläser zu vertheilen. Nach einigem Absetzen giesst man sofort die Flüssigkeit von dem schweren Niederschlag ab und sammelt letzteren auf einem Filter. Bei längerem Stehen lösen sich stets wieder erhebliche Mengen des Niederschlages auf und dasselbe scheint der Fall zu sein, wenn man grosse Volumina auf einmal in Arbeit nimmt.

Die abfiltrirten und abgegossenen Flüssigkeiten versetzt man noch mit etwas Kaliummercurijodid und lässt einige Tage stehen. Zuweilen scheiden sich dann noch erhebliche Mengen krystallinischen Niederschlages ab.

Auch das Auswaschen der auf dem Filter gesammelten Niederschläge halte ich nicht für zweckmässig, weil sich auch hierbei wieder beträchtliche Mengen auflösen. Ich zog es vor, die Niederschläge zwischen Fliesspapier gut abzapressen.

Bei Isolirung der Basen aus den Mercurijodidverbindungen verfuhr ich anfangs nach der ursprünglich von Schmiedeberg¹⁾ angegebenen Methode, indem ich den in Wasser vertheilten Nieder-

1) Das Muscarin etc. Leipzig 1869.

schlag mit feuchtem Barythydrat vermischt durch Schwefelwasserstoff zersetzte, dann mit schwefelsaurem Silber Schwefelwasserstoff und Jod entfernte, überschüssiges Silber durch Barythydrat ausfällte und dann das genau mit verdünnter Schwefelsäure neutralisirte Filtrat nach Trennung von schwefelsaurem Baryt zum Syrup eindampfte.

Bei der Verarbeitung grosser Mengen ist indessen dieses Verfahren wegen der erforderlichen grossen Volumina von Silbersulfatlösung unzweckmässig und zu zeitraubend. Ich zersetzte daher später den Mercurijodidniederschlag einfach mit frischgefälltem feuchten Silberoxyd im Ueberschuss. Man verreibt denselben damit in kleinen Portionen so lange, bis das Gemisch gleichmässig grau gefärbt erscheint, filtrirt und wäscht so lange mit Wasser nach, bis das Filtrat nur noch ganz schwach alkalisch reagirt. Durch die genau mit verdünnter Salzsäure neutralisirten Filtrate, die meistens etwas Silber und Quecksilber enthalten, leitet man einen raschen Strom von Schwefelwasserstoff und dampft sodann die von den Schwefelmetallen abfiltrirten Flüssigkeiten bei mässiger Wärme zum dünnen Syrup ein, der unter dem Exsiccator alsbald zu einer farblosen, strahlig krystallinischen Masse erstarrt. Durch wiederholtes Umkrystallisiren aus absolutem Weingeist beseitigt man kleine Mengen anorganischer Verunreinigungen und erhält so zuletzt die Chlorhydrate der Basen im völlig reinen Zustande.

Der erste mit ca. 1 Kilo trockener Pilze angestellte Versuch, wobei ich mich noch des von Schmiedeberg angegebenen Verfahrens der Isolirung mittelst Baryt, Schwefelwasserstoff und schwefelsauren Silbers bediente, lieferte 1,0 g einer leicht zerfliesslichen Krystallmasse, welche aus regulären, wohlausgebildeten Prismen bestand und die Sulfate der Basen darstellte.

Ein zweiter Versuch mit 3,89 Kilo der trockenen Pilze ergab (Isolirung der Basen durch Silberoxyd) 3,2 g krystallisirte Basenhydrochlorate. Bei dem dritten Versuch mit 10 kg trockenen Pilzpulvers erhielt ich ca. 10 g Basenhydrochlorate, und zuletzt wurden in einem vierten Versuch aus 3,5 kg ganz frischer Pilze 0,4 g Basenhydrochlorate erzielt. Die Ausbeute an Basen ist also bei Verarbeitung trockener Pilze in allen Versuchen übereinstimmend und beträgt ca. 0,1 Proc. des Gewichtes der trockenen Pilze.

Die Ausbeute aus frischen Pilzen bezieht sich nach obigem Versuche auf 0,01 Proc. Da die frischen Pilze ca 90 Proc. Wasser enthalten, so stimmt die aus ihnen gewonnene Basenmenge befriedigend genau mit der Ausbeute aus trockenen Pilzen überein.

Dem äusseren Aussehen nach hatten nun die isolirten Basen

die grösste Aehnlichkeit mit dem Muscarin. Sie waren äusserst zerfliesslich, verkohlten auf dem Platinblech unter Entwicklung von Trimethylamingeruch, welcher auch auf Zusatz von Aetzkali zu der syrupösen Base sofort auftrat.

In wässriger Lösung erzeugte Goldchlorid nur bei sehr starker Concentration einen goldgelben Niederschlag. Platinchlorid fällte die wässrige Lösung nicht, wohl aber die alkoholische.

Die Untersuchung der Basen auf ihre Wirksamkeit hat nun in den 4 aufeinanderfolgenden Jahrgängen eine sehr auffallende Verschiedenheit gezeigt. Unzweifelhaft giftig waren die Präparate aus dem Jahre 1881, weniger die von 1882, fast gar nicht mehr die von 1883 und 1884.

Ich berichte zunächst über die mit den zuerst im Jahre 1881 dargestellten Basen angestellten Versuche.

Kleine Dosen von einigen Milligrammen ergaben auch hier bei Fröschen und Katzen ein negatives Resultat und es konnte bereits hieraus geschlossen werden, dass ich nicht reines Muscarin vor mir hatte.

Ueber die nach Anwendung grösserer Gaben auftretenden Erscheinungen berichten nachstehende Protokolle.

1. Eine kräftige Katze erhält 0,1 g des krystallisirten schwefelsauren Salzes in 1 cem Wasser aufgelöst subcutan.

Nach 5 Minuten häufiges Lecken und Schlingen und unter starkem Drängen eine Darmentleerung.

10 Minuten später starke Salivation, Athmungen etwas erschwert; schnurrende Rasselgeräusche.

Weitere 10 Minuten später Entleerung von hellem Schleim per anum. Salivation dauert fort.

$\frac{1}{4}$ Stunde später abermals Abgang flüssig-schleimiger Massen per anum. Pupillen nicht verengert. Motilität und Sensorium erscheinen unverändert. Noch wiederholt starke Tenesmen. Salivation besteht noch 1 Stunde nach der Injection, kurz darauf völlige Erholung.

2. *Rana esculenta*. Herz blossgelegt. Vor der Vergiftung 42 Herzschläge in der Minute.

5 h 50 m. Injection von 0,05 g des Sulfates subcutan. Darauf Herzschläge in 1 Minute: 44, 45, 43, 41, 40, 39, 38, 38, 37, 36.

6 h 5 m. Vorhöfe sehr stark ausgedehnt, contrahiren sich kaum mehr.

6 h 17 m. 33 Herzschläge in 1 Minute.

7 h 10 m. Ein Tropfen 1 proc. Atropinsulfatlösung auf das Herz geträufelt; sofort steigt die Frequenz auf 49 Schläge in der Minute. Die Vorhöfe contrahiren sich wieder sehr kräftig.

3. *Rana esculenta*. Vor der Vergiftung 40 Herzschläge in 1 Minute.

6 h 35 m. Injection von 0,1 des Sulfates.

6 h 36—39 m. Die Zahl der Herzschläge sinkt auf 33 in 1 Minute. Die Vorhofscontractionen werden immer unvollständiger.

6 h 41 m. Voller diastolischer Herzstillstand.

6 h 50 m. Stillstand andauernd.

7 h — m. Stillstand persistirt. Mechanische Reizung der Herzspitze bewirkt eine kräftige Herzcontraction.

7 h 4 m. 1 Tropfen 1 proc. Atropinsulfatlösung. $\frac{1}{2}$ Minute später regelmässige Ventrikelcontractionen; die Vorhöfe ruhen noch und schlagen erst wieder im Verlauf der folgenden Minute. 32 Herzschläge in 1 Minute.

Diese Versuche stellten das Vorhandensein einer muscarinartig wirkenden Substanz ausser Zweifel.

Der ein Jahr lang aufbewahrte Rest der 1881 isolirten Base zeigte nach Ablauf dieser Zeit keine Abnahme seiner Wirksamkeit.

Als ich 1882 mit frischem Material die Versuche wieder aufnahm und zur Probe zunächst eine kleine Menge des Kaliummercurijodidniederschlags mit Silberoxyd zersetzte und ca. 1 Decigramm der salzsauren Verbindung der Base einem gefensterten Frosch injicirte, trat auch hier alsbald voller diastolischer Stillstand ein.

Die Gesamtmenge der in diesem Jahre isolirten Basen betrug 3,2 g farblosen, schön krystallisirten Hydrochlorates.

Damit wurden folgende Versuche angestellt:

1. Eine kräftige Katze erhält 0,06 g subcutan 11 h. 37 m.

11 h 43 m. Salivation.

11 h 50 m. Leichte Dyspnoe, sehr starke Salivation.

11 h 55 m. Keine weitere Wirkung; das Thier erhält noch 0,12 g des Hydrochlorates.

12 h 5 m. Sehr starke Salivation und Thränenfluss, aber auch jetzt keine anderweitigen Symptome.

12 h 50 m. Salivation hat bis jetzt angedauert. Keine weitere Wirkung.

2. Ein mittelgrosser Hund erhält

12 h 15 m. 0,12 g Hydrochlorat subcutan.

12 h 20 m. Lecken.

12 h 25 m. Etwas Dyspnoe.

12 h 26 m. Thränenfluss. Gähnen. Starkes Zittern. Dyspnoe. Ructus.

12 h 50 m. Keine weitere Wirkung.

3. Kräftige Katze; erhält 10 h. 45 m. 0,11 g des Hydrochlorates.

10 h 47 m. Salivation.

10 h 53 m. Profuse Salivation. Zittern. Dyspnoe.

10 h 54 m. Dyspnoe hat zugenommen.

10 h 56 m. Würgen.

11 h — m. Trachealrasseln; immer noch Dyspnoe.

11 h 35 m. Dyspnoe nimmt ab. Salivation besteht noch, keine Darmentleerung während des ganzen Versuches. Keine weitere Wirkung mehr.

Zeigten die vorstehenden Versuche an Warmblütern schon eine erheblich schwächere Wirkung als die des vorjährigen Präparates, so ergab sich das Gleiche auch bei einer Anzahl von Froschver-

suchen, welche ich ihres negativen Ergebnisses halber nicht in extenso mittheile. Eine geringe, durch Atropin zu beseitigende Verlangsamung und etwas stärker ausgebildete Diastole waren das Einzige, was auf eine rudimentäre Muscarinwirkung hindeuten konnte.

Da ich nun aber mehrere Gramme einer wohl charakterisirten Base besass, so war die Annahme nicht mehr möglich, dass diese die allein wirksame Substanz des Pilzes sei. Es drängte alles zu der Vermuthung, dass auch hier, wie im Fliegenschwamme, ein stärker giftiges neben einem wenig oder gar nicht giftigen Alkaloid vorhanden ist, um so mehr, als die vorliegende Base auch mit dem Amanitin oder Cholin die grösste Aehnlichkeit zeigte.

Ich versuchte nun zunächst durch Darstellung des Platindoppelsalzes ein möglichst reines Präparat zu gewinnen, das der Elementaranalyse unterworfen werden konnte.

Es gelang dies leicht durch Ausfällung der weingeistigen Lösung des Hydrochlorates mit alkoholischer Lösung von Platinchlorid, Auswaschen des Platinniederschlags mit absolutem Weingeist und Auskrystallisiren des in Wasser wieder aufgelösten Niederschlags unter der Luftpumpe. Nach einigen Tagen schiessen prachtvolle grosse, wohlausgebildete Krystalle an, welche Herr Professor Klein in Göttingen krystallographisch bestimmen zu lassen die Güte hatte.

Es ergab sich:

Krystallsystem: Monoklin.

Axenverhältniss $a : b : c = 1,148321 : 1 : 0,690147$

$\beta = 85^\circ 22' 41''$

Auftretende Formen:

$\infty P \infty (010) \infty P \infty (100)$

$\infty P \frac{1}{2} (210), + P (111)$

— $P (111)$

Habitus der Krystalle: Tafelartig nach $\infty P \infty$.

Lage der Ebene der optischen Axen: Senkrecht zum klinodiagonalen Hauptschnitt.

Lage der Mittellinie für gelbes Licht: 14° geneigt zur Axe im stumpfen Winkel β .

Charakter der Doppelbrechung über demselben negativ.

Winkel der optischen Axen sehr klein.

Zur Elementaranalyse wurde die Substanz bei 110° getrocknet; sie enthält kein Krystallwasser.

1. 0,2340 g gaben:

0,1013 $H_2O = 4,81$ Proc. H

0,1696 $CO_2 = 19,76$ " C

0,0755 Pt = 32,27 " Pt

2. 0,2794 g gaben:

$$\begin{aligned} 0,1166 \text{ H}_2\text{O} &= 4,64 \text{ Proc. H} \\ 0,2024 \text{ CO}_2 &= 19,76 \text{ „ C} \\ 0,0890 \text{ Pt} &= 31,86 \text{ „ Pt} \end{aligned}$$

Vergleichen wir diese Zahlen mit der procentischen Zusammensetzung des Cholinplatinchlorides $(\text{C}_5\text{H}_{14}\text{NOCl})_2 + \text{Pt}_2\text{Cl}_4$, so erhalten wir:

	I.	II.	berechnet für $(\text{C}_5\text{H}_{14}\text{NOCl})_2 + \text{Pt}_2\text{Cl}_4$
C	19,76	19,76	19,38
H	4,81	4,60	4,52
Pt	32,27	31,86	31,98

Nach diesen Ergebnissen der Analyse konnte es keinem Zweifel mehr unterliegen, dass die Hauptmenge der aus *Boletus luridus* isolirten Basen aus Cholin (Bileneurin) bestand. Zur weiteren Bestätigung dieser Thatsache dient es, dass ich durch Oxydation der reinen Platinverbindung mit concentrirter Salpetersäure nach der von Schmiedeberg und Harnack ¹⁾ angegebenen Methode eine giftige Base von den Wirkungen des synthetischen Muscarins erhielt.

Die Analyse des Platinsalzes derselben ergab in 0,3250:

$$\begin{aligned} 0,1146 \text{ H}_2\text{O} &= 3,92 \text{ Proc. H} \\ 0,2110 \text{ CO}_2 &= 17,71 \text{ „ C} \\ 0,0938 \text{ Pt} &= 28,86 \text{ „ Pt} \end{aligned}$$

Die Formel des synthetischen Muscarins

$(\text{C}_5\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{Cl}) + \text{PtCl}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	
verlangt	erhalten
C 17,46	16,71
H 4,65	3,92
Pt 28,82	28,86

Die weitere Untersuchung hatte nun folgende Fragen zu entscheiden.

1. Sind die früher schon von Gaehdgens ermittelten giftigen Wirkungen grösserer Dosen von Cholin ausreichend, die bei der Vergiftung mit *Boletus luridus* oder mit dem ursprünglichen Basengemisch auftretenden Wirkungen zu erklären?

2. Gelingt es, aus dem Basengemisch vielleicht eine giftiger wirkende Substanz von den grösseren Mengen des Cholins zu trennen?

Behufs Lösung der ersteren Frage habe ich mit Cholinien verschiedener Abstammung eingehendere Untersuchungen angestellt, über

1) Dieses Archiv. Bd. VI. S. 101.

welche ich in einer gesonderten kleinen Abhandlung im Anschluss an vorstehende Mittheilungen folgen lasse.

Das Resultat derselben glaube ich hier schon dahin zusammenfassen zu können, dass die im Vorstehenden angegebenen giftigen Wirkungen von Präparaten aus *Boletus luridus* nicht allein als Cholinwirkungen aufzufassen sind.

Für den Versuch, die giftigere Base von dem Cholin zu trennen, waren die Chancen von vorneherein sehr ungünstig, da Muscarin jedenfalls nach den Ergebnissen der Vergiftungsversuche nur in minimalen Mengen vorhanden sein konnte.

Die Bemühungen, eine Trennung nach der von Harnack¹⁾ angegebenen Methode mit Hülfe der Golddoppelsalze auszuführen, waren denn auch ganz erfolglos.

Nur bei Verarbeitung sehr grosser Pilzmengen war es einigermaassen wahrscheinlich, dass die Isolirung der giftigeren Base gelingen könnte. Zu diesem Zwecke habe ich den Versuch nochmals mit 10 kg trockener Pilze wiederholt. Die mit der erhaltenen Base angestellten Thierversuche ergaben diesmal weder bei Fröschen, noch bei Katzen giftige Wirkungen, die bei der Anwendung grösserer Gaben über 0,1 bei Fröschen, resp. 0,3 bei Katzen nicht schon als Cholinwirkungen ihre Erklärung gefunden hätten.

Die ca. 10 g betragende Ausbeute von Basenhydrochlorat wurde nun in absolutem Weingeist gelöst und mit alkoholischem Platinchlorid ausgefällt.

Es zeigte sich, dass die weingeistigen Filtrate der Platinniederschläge entschieden kleine Mengen einer muscarinartig wirkenden Base enthielten. Das Platindoppelsalz des natürlichen Muscarins scheint in 95° Weingeist nicht ganz unlöslich zu sein.

Die gesammelten Filtrate wurden durch Einleiten von Schwefelwasserstoff auf dem Dampfbade von Platin befreit und hierauf zum Syrup eingedampft, überschüssige Salzsäure durch Silberoxyd entfernt und der Rückstand aus absolutem Alkohol umkrystallisirt.

Auf diesem Wege erhielt ich endlich wenige Milligramme einer Base, welche bei Fröschen diastolischen Herzstillstand hervorrief. Zu Versuchen an Säugethieren sowie zur näheren chemischen Untersuchung waren die kleinen Quantitäten nicht ausreichend.

Schmiedeberg und Harnack haben für das synthetische Muscarin schon die Beobachtung mitgetheilt, dass es bei der Zer-

1) Dieses Archiv. Bd. IV.

setzung seines Platindoppelsalzes durch Schwefelwasserstoff in der Wärme zum Theil zu Cholin reducirt wird. Dasselbe scheint mir namentlich auf Grund anderer, bei *Agaricus pantherinus* gemachter Erfahrungen noch mehr bei dem natürlichen Muscarin der Fall zu sein und ich vermute daher, dass der von mir eingeschlagene Weg der Trennung kein zweckmässiger war, dass vielleicht doch etwas grössere Mengen von Muscarin vorhanden waren, die aber bei der Zersetzung des Platinsalzes durch Schwefelwasserstoff wahrscheinlich zum grossen Theil reducirt worden sind. Leider konnte ich aber bisher kein anderes Verfahren der Trennung ausfindig machen.

Es war nun noch an die Möglichkeit zu denken, dass vielleicht doch aus den nicht getrockneten, frischen Pilzen grössere Mengen der giftigeren Base zu erhalten wären.

Ich verarbeitete daher in diesem Herbste 3,5 kg ganz frischer Pilze möglichst rasch und bei möglichster Vermeidung höherer Temperaturen und erhielt 0,4 g Basen, welche, einer Katze im Verlaufe einer Stunde in Dosen von 0,08, dann 0,32 beigebracht, ausser ganz geringem Speichelfluss, der sich auf die Wirkung des Cholins zurückführen lässt, keine Spur einer giftigen Wirkung hervorriefen.

Damit glaubte ich die Untersuchungen über *Boletus luridus* abschliessen zu können. Sie gestatten uns den sicheren Schluss, dass dieser Pilz jedenfalls zu den sehr wenig giftigen Arten zählt.

Trotzdem kann das Vorkommen kleiner Mengen einer muscarinartigen Base, höchst wahrscheinlich von Muscarin, neben viel Cholin in demselben als erwiesen gelten und es sprechen meine Resultate dafür, dass dieser Gehalt an Gift nach den Jahrgängen variabel ist.

Man wird daher mit Krombholz *Boletus* immerhin als „verdächtig“ und seinen Genuss als unzulässig bezeichnen dürfen.

Dass auch im Fliegenschwamm der Muscaringehalt sehr erheblichen Schwankungen unterliegt, ist durch die Arbeiten von Schmiedeberg und Harnack ausser Frage gestellt.

Während bei der ersten Darstellung des Muscarins aus in Russland gesammelten Pilzen Schmiedeberg offenbar beinahe reines Muscarin erhielt, fand bei der zweiten Darstellung Harnack bereits ein Gemisch von Cholin und höchstens 50 Proc. Muscarin. Aus hiesiger Gegend stammende Fliegenschwämme scheinen nach Untersuchungen des Herrn Apotheker Jung in Kirchhain noch mehr Cholin und noch weniger Muscarin zu enthalten.

II. *Amanita pantherina*.¹⁾

Von den unbestritten giftigen Hutpilzen sind es namentlich zwei, auf welche sich in erster Linie unser Augenmerk richten muss, wenn es sich darum handelt, die Frage auf experimenteller Grundlage zu erledigen, ob das Muscarin in mehreren oder vielleicht in allen giftigen Hutpilzen das toxische Princip bildet: *Amanita bulbosa* (*Agaricus palloides*) und *Amanita pantherina*.

Von dem ersteren — *Amanita bulbosa* — liegen in der toxikologischen Literatur ziemlich zahlreiche, zum Theil wenigstens genauer beobachtete Vergiftungsgeschichten, sowie auch Thierversuche vor, deren Symptomatologie, wie schon Schmiedeberg und Koppe hervorheben, eine unverkennbare Aehnlichkeit, wo nicht Uebereinstimmung mit den Erscheinungen der Muscarinvergiftung darbietet. Leider habe ich diesen Pilz in hiesiger Gegend nicht in ausreichender Menge vorgefunden, um seine chemische Untersuchung vornehmen zu können.

Amanita pantherina steht dem Fliegenschwamm schon in botanischer Hinsicht sehr nahe. Die Aehnlichkeit oder Identität seiner giftigen Wirkung mit der des Fliegenschwammes hat schon Krombholz auf Grund allerdings sehr spärlicher und oberflächlicher Thierversuche hervorgehoben.

Dieser Pilz stand mir nun in genügender Menge zu Gebote und ich versuchte es daher, seinen giftigen Bestandtheil zu isoliren.

Der Pantherschwamm²⁾ unterscheidet sich vom Fliegenschwamm eigentlich nur durch die verschiedene Färbung des Hutes, welche beim Fliegenschwamm roth, beim Pantherschwamm bräunlich ist. Ich habe ihn stets in zahlreichen Exemplaren vereinigt,

1) *Agaricus pantherinus*. DC. (Pantherschwamm.)

Krombholz (l. c. Heft 4. S. 24. Atlas-Tafel XXIX. Bild 10—13) beschreibt *A. pantherina* als: Pantherfleckiger Fliegenschwamm, Blätterschwamm, Pantherschwamm. Fleckigt brauner Fliegenschwamm. Wilder Fliegenschwamm. Krötenschwamm.

Synonyme: *Agaricus umbrinus*; Otto. *Amanita umbrina*; Persoon. *Ag. ruderatus*; Batsch. *Ag. maculatus*; Schäffer. *Ag. verrucosus*; Willdenow. *Ag. pustulatus*; Scopol. *Ag. muscarius fuscus*; Linnée.

2) Die Beschreibung des Pilzes bei Luerssen (Botanik I. S. 371) lautet;

Hut 7—12 cm breit, ausgebreitet convex, bräunlich, oft ins Grünliche oder Bläuliche spielend, am Rande gestreift. Lamellen nach hinten verschmälert. Stiel 7—12 cm hoch, später hohl, mit einer trennbaren, ockergelben Wulstseide am Grunde, der Ring schief und unregelmässig. Von August bis October in Laubwäldern. Giftig.

aber niemals in unmittelbarer Gesellschaft des Fliegenschwammes angetroffen. Von den Arten, welche mit Pantherschwamm mehr oder weniger leicht verwechselt werden könnten, kommt *Amanita rubescens* (der graue Fliegenschwamm, dessen Fleisch sich auf dem Bruche röthlich färbt) hier nur vereinzelt, *Amanita cinerea* (aschgrauer Fliegenschwamm) und *Amanita excelsa* (hoher Fliegenschwamm) hier so gut wie gar nicht vor. Ueber die chemische Zusammensetzung des Pilzes habe ich in der Literatur nichts vorgefunden.

In toxikologischer Hinsicht ist die Mittheilung von Biagio Ramella¹⁾ von Interesse, welche sich auf die Vergiftung von 6 Personen durch den Genuss des botanisch bestimmten Pantherschwammes bezieht. Der Fall hat sich im September 1843 zu Bra in Italien zugegetragen.

Bei der chemischen Untersuchung des Pantherschwammes, von welchem mir in zwei Jahrgängen 5 resp. 10 kg lufttrockenen Pulvers zu Gebote standen, wurde im Wesentlichen derselbe Weg eingeschlagen, welchen ich bei *Boletus luridus* ausführlicher beschrieben habe.

Das ätherische Extract, welches zum grössten Theile aus verseifbaren Fetten besteht, ausserdem aber grössere Mengen einer in grossen Nadeln krystallisirenden, offenbar gleichfalls dem Cholesterin nahestehenden Substanz enthält, habe ich bisher einer genaueren Analyse noch nicht unterzogen. Aus den Niederschlägen, welche bei der Ausfällung der in Wasser aufgenommenen, theilweise von Mannit befreiten Rückstände der spirituösen Auszüge mit Bleiessig erhalten wurden, habe ich in ähnlicher Weise wie bei *Boletus luridus* einen Körper erhalten, welcher in gelbbraunen Krusten krystallisiert (die Farbe der Krystalle ist derjenigen der Hutoberfläche des frischen Pilzes sehr ähnlich), sich in Wasser und Alkohol leicht, in Aether und Chloroform nur langsam auflöst und in seinen Lösungen sehr stark sauer reagirt.

Geruch und Geschmack dieses Körpers, welchen ich vorläufig als Pantherinussäure bezeichne, sind dem Geruche und Geschmacke der Luridussäure sehr ähnlich.

Wie diese, so ist auch die Pantherinussäure bei höherer Temperatur flüchtig. Bei stärkerem Erhitzen sublimiren auch hier aus weissen, brenzlich-stechend riechenden Dämpfen weisse Krystalle, welche höchst wahrscheinlich nichts Anderes als Bernsteinsäure sind.

1) Annal. de Thérap. med. et chir. Juni 1844. Referat in Canstatt's Jahresb. 1844. Bd. V. S. 243.

Die verdünnte wässrige Lösung der freien Säure färbt sich auf Zusatz von Ferrichlorid dunkelgrün. Bleiessig und Bleizuckerlösung bewirken gelbliche, theilweise krystallinische Niederschläge, Silbernitrat einen spärlichen, weissen Niederschlag. Auf Zusatz von Ammon färbt sich die wässrige Lösung schwach roth.

Beim vorsichtigen Neutralisiren der wässrigen sherryfarbigen Lösung mit Natronhydrat tritt keine auffallende Farbenveränderung ein. Diese neutralisirte Lösung (Natronsaltz) gibt mit Ferrichlorid einen käsigen schwarzen Niederschlag, welcher beim Verdünnen schmutzig schwarzgrün erscheint. Bleizuckerlösung erzeugt eine gelblich-weiße amorphe Fällung, essigsaures Kupfer eine dunkelsmaragdgrüne Färbung, aber keinen Niederschlag. Silbernitrat bewirkt eine sehr voluminöse weiße Fällung, die in wenigen Minuten durch Reduction schwarz wird.

Eine eingehendere Untersuchung der Substanz habe ich bisher noch nicht ausführen können. Auffallend und nicht ohne Interesse erscheint die Aehnlichkeit derselben mit der Luridussäure, und es liegt die Annahme sehr nahe, dass wir es in beiden mit Repräsentanten einer, vielleicht in vielen Pilzen verbreiteten Gruppe von eigenthümlichen Farbstoffen zu thun haben.

Durch Fällung mit Kaliummercurijodid und Zersetzen des Niederschlages mittelst frischgefällten Silberoxyds wurden aus 10 kg trockener Pilze ca. 13,0 g farblose, krystallinische, sehr zerfliessliche Basenhydrochlorate erhalten.

Auch hier musste zunächst durch Thierversuche die Frage erledigt werden, ob ein stärker giftig wirkendes Alkaloid in dem Basengemisch enthalten war.

Mit kleineren Mengen an Fröschen angestellte Versuche ergaben nur die Wirkungen entsprechender Cholindosen ohne deutlich wahrnehmbare Einwirkung auf die Herzthätigkeit.

Anders gestaltete sich die Sache bei Vergiftungen an Katzen und Kaninchen.

1. Eine etwas schwächliche Katze (das Thier hatte 8 Tage vorher geboren) erhält um 10 h. 0,1 g des Basengemisches.

10 h 3 m. Sehr starker Speichelfluss.

10 h 5 m. Starkes Zittern in den Bauchmuskeln.

10 h 6 m. Die Katze stürzt gelähmt zusammen, kann sich nicht mehr erheben. Starke Zuckungen in den Extremitäten. Athmung mangelhaft ohne eigentliche Dyspnoe. Pupillen ziemlich eng.

10 h 7 m. Völlige Paralyse. Athmung sehr oberflächlich und selten.

10 h 9 m. Tod. Pupillen erweitern sich. Nach dem Tode noch bis 10 h. 30 m. sehr starke postmorale Zuckungen in allen Gliedern.

2. Kaninchen. 10 h 11 m. Injection von 0,1 g.
10 h 12 m. Starkes Lecken und Kauen. Keine weitere Wirkung bis
10 h 32 m. Das Thier erhält noch 0,025 g.
10 h 33 m. Speichelfluss.
10 h 34 m. Schwäche in den hinteren Extremitäten.
10 h 35 m. Parese. Das Thier liegt halb auf der Seite.
10 h 37 m. Dyspnoe.
10 h 43 m. Zuckungen in den Rückenmuskeln.
11 h 10 m. Speichelfluss sistirt; reiche Kothentleerungen.
11 h 20 m. Zittern. Die Parese schwindet allmählich wieder.
3. Katze erhielt 0,107 g subcutan um 10 h.
10 h 1 m. Salivation.
10 h 2 m. Thränenfluss. Dyspnoe.
10 h 3 m. Pupillen verengern sich.
10 h 5 m. Dünne Fäces entleert, heftiges Erbrechen.
10 h 6 m. Pupillen sehr eng.
10 h 7 m. Dünnflüssige Darmentleerung.
10 h 8 m. Ebenso. Zittern in den Muskeln. Starke Dyspnoe.
10 h 15 m. Entleerung dünnen Schleims per anum.
10 h 31 m. Heftiges Würgen. Salivation und Dyspnoe sehr stark.
Zittern in den Muskeln.
10 h 40 m. Dyspnoe nimmt ab.
11 h 20 m. Noch starke Salivation, sonst fortschreitende Erholung.
Pupillen noch eng.
11 h 40 m. Das Thier hat sich ganz erholt. Pupillen sind wieder
weiter geworden.
4. Kräftige Katze erhält 0,25 g 9 h. 35 m. subcutan.
9 h 37 m. Dyspnoe. Flankenathmen. Lecken. Schleimrasseln. Er-
brechen und Durchfall. Salivation.
9 h 40 m. Würgen, starke Dyspnoe.
9 h 41 m. Enge Pupillen. Schwäche. Tenesmen. Sehr heftige
Dyspnoe.
9 h 43 m. Grosse Schwäche. Das Thier vermag sich nicht mehr
aufzurichten. Athmung wird mangelhaft.
9 h 45 m. Heftige Zuckungen. Tod.
9 h 52 m. Das ganze Thier durch postmortale Zuckungen in Be-
wegung, welche bis 10 h. 5 m. andauern.

Die vorstehenden Versuche hatten eine relativ intensive Giftig-
keit des isolirten Basengemenges ergeben.

Das Bild der Vergiftung enthielt zwar unverkennbare Züge der
Muscarinvergiftung, wie Myosis, Dyspnoe, Erbrechen, Durchfälle, wich
aber doch darin sehr wesentlich von derselben ab, dass grössere
Dosen in sehr kurzer Zeit unter den Erscheinungen einer rasch fort-
schreitenden allgemeinen Muskellähmung mit nachfolgenden post-
mortalen Zuckungen tödteten. Hatten dieser Verlauf und diese
Symptome wiederum die grösste Aehnlichkeit mit der Wirkung tödt-
licher Cholindosen bei Katzen, so waren doch die angewandten Dosen

von 0,1—0,25 g viel zu klein, um eine einfache Cholinwirkung annehmbar erscheinen zu lassen, da das Cholin erst in Mengen von 0,5 g tödtliche Wirkungen bei Katzen äussert.

Es ergab sich hieraus die Nothwendigkeit, das Basengemisch, welches, wie schon das äussere Aussehen ergab, wiederum grosse Mengen von Cholin zu enthalten schien, in seine Bestandtheile zu zerlegen. Die von Harnack benutzte Methode der Trennung mittels Darstellung der Goldsalze erwies sich auch hier als unzureichend. Die verschiedenen Fractionen der Goldchloridniederschläge enthielten stets neben der schwächer wirkenden auch kleine Mengen der giftigeren Base, welche offenbar bei den hier sowie auch bei *Boletus luridus* vorliegenden Mengenverhältnissen des Cholins mit diesem bei der Fällung niedergerissen wird.

Es blieb daher nichts Anderes übrig, als die Trennung mit Hülfe der Platindoppelsalze zu versuchen.

Zunächst war die Anwesenheit von Cholin in grösseren Mengen sicher zu beweisen. Nach dem schon bei *Boletus luridus* beschriebenen Verfahren wurde der in 96° Spiritus unlösliche Theil der Platinverbindungen durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Wasser über Schwefelsäure in der Luftpumpe in Form der bekannten prachtvollen, wohlausgebildeten klinorhombischen Krystalltafeln in grosser Menge (im Ganzen ca. 15 g) erhalten. Zur Identificirung glaubte ich mich hier auf die analytische Bestimmung des Platingehaltes beschränken zu können.

Die über Schwefelsäure unter der Luftpumpe getrockneten Krystalle wurden fein gepulvert, das Pulver bei 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und hierauf im Porcellantiegel verbrannt und geglüht.

Gefunden Berechnet

I. 0,8240 g ergaben 0,2741 g Pt = 31,67 Proc. 31,98 Proc.

II. 0,9300 g = 0,2963 g = 31,88 = —

Es war sonach zweifellos die Anwesenheit grosser Cholinmengen auch in *Amanita pantherina* dargethan.

Zur Isolirung der giftiger wirkenden Base fällte ich nun zuerst die weingeistige Lösung von 1,0 g der ursprünglichen Basenchloridgemische mit alkoholischem Platinchlorid und wusch den Niederschlag mit 99° Weingeist.

Aus den gesammelten Waschflüssigkeiten erhielt ich zunächst nach dem Ausfällen des Platins auf dem Wasserbade durch Schwefelwasserstoff und dem Eindampfen des Filtrates von Schwefelplatin 0,047 g Rückstand, welcher sich nur etwa zur Hälfte in Wasser löste und noch Verunreinigungen von etwas Fett und Harz enthielt.

0,02 g dieser Substanz bewirkten bei einer Katze deutliche Vergiftungserscheinungen.

Katze erhält 10 h. 5 m. 0,01 g subcutan.
10 h 17 m. Speichelfluss.
10 h 20 m. Dünnbreiige Kothentleerung.
10 h 40 m. Die Katze erhält noch 0,02 g subcutan.
10 h 45 m. Starke Salivation.
10 h 47 m. Dyspnoe und dünnbreiige Kothentleerungen. Speichelfluss profus. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde erholt sich das Thier.

Die auf dem Filter gesammelten Platinverbindungen wurden nun einmal mit 90° Spiritus ausgekocht. Das weingeistige Filtrat hinterliess nach der Entfernung des Platins und dem Eindampfen 0,023 g krystallinischen farblosen, zerfliesslichen Rückstand.

Davon erhielt

eine Katze um 11 h. 5 m. 0,01 g subcutan.
11 h 6 m. Profuse Salivation.
11 h 11 m. Dyspnoe.
11 h 35 m. Dünnbreiige Kothentleerung.
11 h 38 m. Die Katze erhält noch 0,01 g.
11 h 43 m. Sehr starke Dyspnoe.
11 h 46 m. Tenesmen und dünnschleimige Darmentleerungen, die sich unter Fortdauer der Dyspnoe und Salivation häufig wiederholen.
12 h 39 m. Heftiges Erbrechen. Pupillen sehr eng.
1 h. Fortdauer obiger Symptome. Wiederholtes Erbrechen und Durchfälle. Pupillen spaltförmig.
3 h 48 m. Derselbe Zustand; grosse Schwäche und Mattigkeit.
7 h. Unter Fortdauer der angegebenen Symptome und Zunahme der Schwäche erfolgt der Tod. Keine postmortalen Zuckungen.

Ein Frosch erhält den Rest von 0,003 g subcutan.

Nach 2 Minuten erfolgt completter diastolischer Stillstand des Herzens, der durch Atropin wieder gehoben wird.

Die Wirkungen der aus den weingeistigen Filtraten erhaltenen Base stimmten sonach in allen Einzelheiten mit denen des natürlichen Muscarins überein.

Der Versuch, durch weiteres Auskochen des Platinchloridniederschlags mit Weingeist noch eine grössere Ausbeute an giftiger Base zu erhalten, ergab kein befriedigendes Resultat. 90° Weingeist nahm nur noch minimale Mengen auf. Bei Anwendung von 80° Spiritus gingen erhebliche Mengen von Cholinplatinchlorid in Lösung, welche sich beim Erkalten in Krystallform grösstentheils wieder ausschieden. Die von Platin befreiten Filtrate dieser Krystalle ergaben eine nur sehr schwache Muscarinwirkung.

Ich musste mich daher darauf beschränken, aus dem noch vor-

handenen Reste von 10,0 g der Basenhydrochlorate in der oben angegebenen Weise die giftige Base zu isoliren, und erhielt so im Ganzen 0,5 g, wovon, wie die unten mitgetheilten Versuche zeigen, 0,025 g genügten, eine Katze zu tödten und in minimo 0,002 g bei Fröschen diastolischen Stillstand hervorriefen.

Da die Grösse dieser Dosen indessen darauf schliessen liess, dass immer noch nicht reines Muscarin vorlag, so unternahm ich nochmals eine Reihe von Versuchen der Reinigung durch Darstellung der Goldchloridverbindungen, die indessen leider auch hauptsächlich infolge der Spärlichkeit des Materials resultatlos verliefen. Es gelang mir nicht eine Substanz zu isoliren, welche schon in den von Schmiedberg und Harnack für das natürliche Muscarin angegebenen Dosen wirkte, und das offenbar noch mit Cholin vermengte Muscarin von Ersterem vollständig zu trennen und durch die chemische Analyse zu identificiren.

Ich musste mich daher auf die genauere Feststellung der toxischen Wirkungen der Base beschränken. Der Annahme, dass wirklich natürliches Muscarin vorlag, widersprach nur noch die Beobachtung, dass letale Mengen des ursprünglichen Basengemisches unter Erscheinungen tödteten, welche dem Bilde der Vergiftung mit Fliegen-schwamm-muscarin entschieden nicht angehören. Es war daher vor Allem zu entscheiden, ob grössere Mengen der erhaltenen giftigen Base ebenso, wie das ursprüngliche Gemisch, in kurzer Zeit allgemeine Paralyse hervorriefen und unter dem Bilde einer Curarevergiftung tödteten. Da die in der folgenden Abhandlung über die Wirkungen des künstlichen Muscarins mitgetheilten Versuche zeigten, dass dieses neben den charakteristischen Wirkungen des Fliegen-schwammes auch intensive Curarewirkungen verursacht, so war auch an die Möglichkeit zu denken, dass das Pantherinusmuscarin vielleicht nicht mit dem des Fliegen-schwammes, sondern mit dem künstlichen identisch war.

Die Ergebnisse der einschlägigen Versuche sind in nachstehenden Protokollen enthalten.

1. Eine Katze erhält um 4 h. 19 m. 0,022 g der giftigen Base subcutan.

4 h 20 m. Dyspnoe. Erbrechen. Dünnbreiige Kothentleerungen. Salivation.

4 h 25 m. Würgen und Erbrechen.

4 h 30 m. Ebenso.

4 h 32 m. Enge Pupillen. Abgang von Schleim per anum.

4 h 35 m. Schwäche. Wiederholter Schleimabgang per anum. Erbrechen. Pupillen spaltförmig.

4 h 45 m. Wiederholtes Erbrechen und Durchfälle. Pupillen strichförmig.

5—6 h. Wiederholtes heftiges Erbrechen von Schleim; grosse Mattigkeit. Das Thier erhebt sich aber von Zeit zu Zeit und ist entschieden nicht paralytisch.

9 h. Noch derselbe Zustand; während der Nacht stirbt das Thier.

2. Kräftige Katze erhält 11 h. 33 m. 0,028 g der giftigen Base subcutan.

11 h 34 m. Salivation.

11 h 36 m. Dyspnoe. Rasselgeräusche.

11 h 37 m. Breiige Defäcationen; starke Dyspnoe.

11 h 40 m. Erbrechen.

11 h 44 m. Mattigkeit; enge Pupillen.

11 h 46 m. Das Thier erhebt sich, erbricht mehrmals und hat schleimige Durchfälle.

12 h — m. Pupillen spaltförmig.

12 h 10 m. Liegt matt auf der Seite. Pupillen strichförmig.

12 h 20 m. Das Thier kann sich mühsam erheben, ist entschieden nicht paralytisch; erbricht wieder mehrmals; sonst Status idem.

1 h 45 m. Grosse Schwäche.

2 h 10 m. Tod. Keine postmortalen Zuckungen.

3. Sehr starke und grosse Katze erhält um 12 h. 20 m. 0,05 g der giftigen Base.

Genau dasselbe Vergiftungsbild wie im vorigen Versuche. Tod um 6 h. Keine postmortalen Zuckungen.

Das Symptomenbild der vorstehenden Versuche zeigt auch nicht die geringste Abweichung von der Wirkung des Fliegenschwamm-muscarins und es kann daraus sowie auch aus den charakteristischen Wirkungen auf das Froschherz, wo stets nach 0,002 g innerhalb 1—2 Minuten diastolischer Stillstand des ganzen Herzens eintrat, mit der allergrössten Wahrscheinlichkeit geschlossen werden, dass *Amanita pantherina* in der That eine mit dem Fliegenschwamm-muscarin identische Base enthält.

Die abweichenden Symptome nach der Vergiftung mit dem ursprünglichen Basengemische können sonach nicht anders als durch eine combinirte Cholin- und Muscarinwirkung erklärt werden, und es gewinnt den Anschein, dass bei der Einwirkung eines Gemisches einer an sich noch nicht tödtlichen Cholinmenge (von 0,1—0,25 g) mit einer letalen Muscarindosis die giftigen Wirkungen des Cholins stärker hervortreten und den Verlauf der Vergiftung bedeutend abkürzen.

Die Resultate der mitgetheilten Untersuchungen lassen sich kurz in folgende Sätze zusammenfassen.

1. Sowohl *Boletus luridus* wie *Amanita pantherina* ent-

halten Cholin, und zwar in der Menge von circa 0,1 Proc. der Trockensubstanz der Pilze.

2. Daneben enthält *Boletus luridus* nach den Jahrgängen wechselnde, nur sehr kleine Mengen, *Amanita pantherina* erheblichere Quantitäten einer giftigen Base, welche in ihren Wirkungen vollständig mit dem Fliegenschwamm-muscarin identisch, höchst wahrscheinlich natürliches Muscarin ist.
