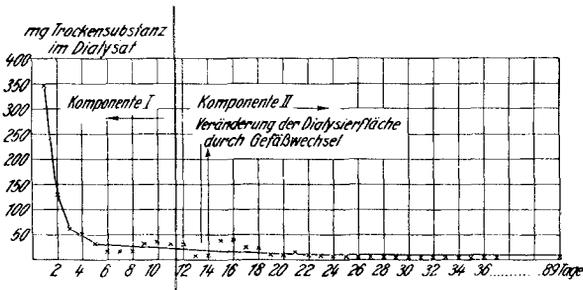


283. Georg Hahn und Heinrich Leditschke: Über das Bienengift IV. Mitteil.¹⁾: Gewinnung beider Giftkomponenten durch Dialyse.

[Aus d. Institut für Organ. Chemie d. Universität Frankfurt a. M.]
(Eingegangen am 21. Juni 1937.)

In der III. Mitteilung konnte gezeigt werden, daß bei fraktionierter Dialyse des vorgereinigten Bienengiftes (Extrakt mit 60-proz. Alkohol) die krampferregende Komponente (Komponente I) relativ rasch herausdialysiert, während der Rückstand im Tierversuch die Wirkungen der Komponente II zeigt. Nach 8 Tagen fortgesetzter Dialyse lieferte das letzte Dialysat immer noch etwa 1% Komponente I, bezogen auf die angesetzte Menge Gesamtgift. Es erschien daher geboten, die Dialyse so lange fortzusetzen, bis die krampferregende Komponente vollständig entfernt war. Hierbei ergab sich nun überraschenderweise, daß auch die zunächst für nicht-dialysabel gehaltene Komponente II — wenn auch sehr viel langsamer — durch die Membran hindurchgeht. Der weitere Verlauf des in der III. Mitteilung angeführten Dialysierversuches ergibt sich aus der Kurve 1:



Kurve 1.

Man sieht daraus, daß die Komponente II zwar nur in sehr kleinen, aber pro Zeiteinheit in gleichen Mengen durch die Membran hindurchtritt. Die Fraktionen wurden jeweils im Tierversuch geprüft, wobei sich eine allmähliche Abnahme der krampferregenden Wirkung ergab, bis diese bei der 12. Fraktion gänzlich ausblieb und die Tiere von da an unter den charakteristischen Symptomen der Komponente II eingingen. Beide Bienengift-Komponenten sind somit dialysabel. Der große Unterschied in der Dialysier-Geschwindigkeit gestattet dabei nicht nur eine Trennung, sondern auch eine Gewinnung beider Komponenten in wirkungsreiner Form.

Etwa von Fraktion 10 an kann man die Überschneidung der Wirkungen von Komponente I und II im Tierversuch erkennen. Die Krämpfe werden schwächer, und der Tod tritt dann durch die Wirkungen der Komponente II ein. Während z. B. mit nicht tödlichen Dosen von Komponente I vergiftete Tiere nach Überwindung der Krämpfe noch etwa einen Tag lang sehr zittrig bleiben, nervös hin- und herrennen, dabei aber schon wieder Futter nehmen,

¹⁾ I. Mitteil.: Gg. Hahn u. H. Ostermayer, B. **69**, 2407 [1936]; II. Mitteil.: Gg. Hahn u. H. Leditschke, B. **69**, 2764 [1936]; III. Mitteil.: Gg. Hahn u. H. Leditschke, B. **70**, 681 [1937].

verhalten sich Tiere, die daneben auch noch eine nicht tödliche Dosis von Komponente II erhalten haben nach Abflauen der Krämpfe völlig ruhig. Sie sind anscheinend gelähmt, nehmen einen ganzen Tag lang kein Futter und brauchen viel länger, bis sie wieder völlig normal werden. Häufig bleibt eine Lähmung der hinteren Extremitäten zurück. In den äußeren Symptomen gleicht die Wirkung der Komponente II völlig der des Schlangengiftes, von dem wir das Gift von *Bothrops alternata* — einer Viperide — zum Vergleich herangezogen haben.

Um neben dem Tierversuch chemische Unterscheidungsmerkmale zu finden, haben wir die einzelnen Fraktionen des ersten Dialyserversuches durchanalysiert. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.
Analysenwerte des Dialyserversuches Nr. I.

Fraktion N ^o	N %	S %	P %	Mg ²⁾	CH %	Ergebnis des Tierversuches
Extrakt mit 60-proz. Alkohol ³⁾	12.25	1.21	1.00	+		Wirkung wie bei natürl. Gift
1. Fraktion (1 Tag) .	8.21	1.22	1.54	+		Tod unter starken Krämpfen
2. „ (2 Tage)	9.55	1.14	1.69	+		„ „ „ „
3. „ (3 „)	10.84	1.27	1.70	—		„ „ „ „
4. „ (4 „)	11.80	—	1.49	—	C 43.78 H 6.77	„ „ „ „
9. „ (9 „)	14.54	1.16	0.83	—	C 49.42 H 7.79	„ „ Krämpfen
14.—18. Fraktion vereinigt	14.03	0.99	0.36	—	C 48.66 H 7.71	Tod ohne Krämpfe unter Lähmungserscheinungen
Rückstand	14.46	1.41	0.15	—	C 51.50 H 7.70	Tod ohne Krämpfe unter Lähmungserscheinungen

Bei der Auswertung der Analysenergebnisse ist zu berücksichtigen, daß Fraktion 1 und 2 noch hygroskopische Begleitsubstanzen enthalten, die die Trockensubstanzen an der Luft stets sirupös werden lassen. Erst von Fraktion 3 an erhält man nicht hygroskopische Pulver. Wir möchten daher die ansteigenden Stickstoffwerte vorläufig nicht als charakteristisch ansehen. Der Schwefelgehalt scheint sich auf beide Komponenten etwa gleichmäßig zu verteilen, ist also ungeeignet zur Charakterisierung. Wichtig erscheint dagegen der unverkennbare Gang, den der Phosphorgehalt zeigt. Er steigt gegen das Ausgangsmaterial zunächst stark an, erreicht, nachdem die genannten hygroskopischen Verunreinigungen nebst dem $Mg_3(PO_4)_2$ beseitigt sind, seinen höchsten Wert, um dann — anscheinend im Maße, in dem die

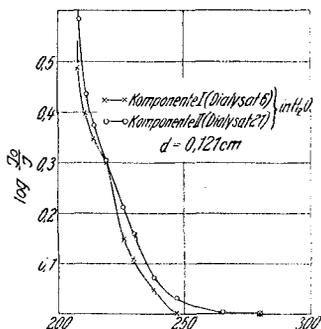
²⁾ Der Mg-Gehalt wurde hier nur qualitativ durch Bildung von $MgNH_4PO_4$ beim Betupfen mit konz. Ammoniak unterm Mikroskop ermittelt, bezieht sich also nur auf ionogen gebundenes Mg.

³⁾ Die Werte des Extraktes mit 60-proz. Alkohol variieren etwas gegen die früher mitgeteilten. Sie werden das immer tun, je nachdem die Abtrennung der in 60-proz. Alkohol unlöslichen Ballaststoffe mehr oder weniger vollständig gelingt.

Konzentration an Komponente I absinkt — ebenfalls abzunehmen. Es muß der weiteren Reinigung der beiden Komponenten vorbehalten bleiben, festzustellen, ob Komponente I wirklich durch einen hohen Phosphorgehalt gegenüber Komponente II ausgezeichnet ist. Da sich das in der II. Mitteilung (l. c.) als $Mg_3(PO_4)_2$ ermittelte Mg-Salz praktisch vollständig schon in den ersten beiden Fraktionen befindet, kann der hohe Phosphorgehalt der Fraktion 3 nur durch eine organische, schnell dialysierende Phosphorverbindung hervorgerufen werden. Daß diese Phosphorverbindung die Komponente I ist und nicht etwa eine unwirksame Begleitsubstanz, wird durch folgenden Zusammenhang sehr wahrscheinlich. Wie schon in früheren Mitteilungen erwähnt, fand Carlett⁴⁾, daß das Bienengift aus zwei Drüsen stammt. Die eine liefert ein saures, die andere ein alkalisch reagierendes Sekret. Es lag nahe, anzunehmen, das die von uns gefundenen Komponenten von diesen beiden Drüsen getrennt erzeugt würden. Die Zuordnung war auf folgende Weise möglich. Stellt man sich konzentrierte wässrige Lösungen der beiden Komponenten her und versetzt diese mit 2-n. Natronlauge, so beobachtet man in der Lösung der Komponente II einen dicken Niederschlag, während die Lösung der Komponente I völlig klar bleibt. Das heißt also: Komponente II ist eine basische Substanz, die aus ihrer wässrigen Lösung mit Alkali fällbar ist. Sie kann daher nur aus der Drüse mit dem sauren Sekret stammen. Komponente I dagegen ist eine — wahrscheinlich amphotere — Säure, die in Alkali löslich ist. Sie wird daher wohl aus der Drüse mit dem alkalischen Sekret stammen. Im Zusammenhang mit dem hohen Phosphorgehalt könnte man den sauren Charakter der Komponente I daher erklären, wenn man annimmt, es handle sich um ein saures Phosphorsäure-Derivat.

Ogleich die Fraktionen 6 und 21 sicher noch keine einheitlichen Komponenten darstellen, haben wir doch von beiden die Absorptions-Spektren im Ultraviolett aufnehmen lassen⁵⁾. Wie indessen die Kurve 2 zeigt, können die beiden Komponenten nicht sehr verschieden gebaut sein, so daß es im Bereich des Möglichen liegt, daß Komponente I das saure Phosphorsäure-Derivat von Komponente II oder zum mindesten einem sehr ähnlich gebauten Stoff ist.

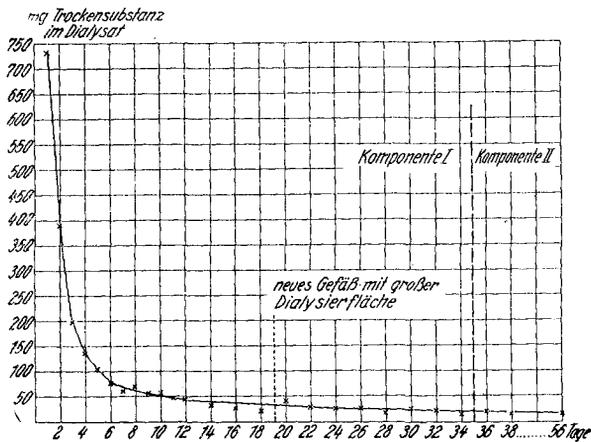
Um die Reproduzierbarkeit der Trennung der beiden Bienengift-Komponenten durch Dialyse sicherzustellen, bzw. um den Einfluß unterschiedlicher Porenweite verschiedener Hülsen kennenzulernen, wurde ein zweiter Dialyserversuch durchgeführt. Das Ergebnis ist in Kurve 3 zusammengefaßt:



Kurve 2.

⁴⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 98, 1550 [1884].

⁵⁾ Für die Ausführung sind wir Hrn. Dr. K. Wallenfels im Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie, dankbar.



Kurve 3.

Vergleicht man Kurve 1 und 3, so ergibt sich der völlig analoge Verlauf der Dialyse auf den ersten Blick. Es besteht jedoch ein wesentlicher Unterschied in der Schärfe der Trennung der beiden Komponenten. Während beim ersten Ansatz bei gleichdimensionierter Hülse schon nach 12 Tagen kein Krampfgift mehr im Dialysat nachzuweisen war, ging im zweiten Ansatz die Trennung viel langsamer vor sich. Erst nach 24 Tagen war die Abnahme der Krampfgift-Konzentration merklich, und erst nach 36 Tagen war keine Komponente I mehr nachweisbar. Bei der hier verwendeten Hülse war die Porenweite offenbar für die Trennung ungünstiger.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für gewährte Unterstützung, der Fa. H. Mack Nachf., Ulm a. D., für Ausführung von Tierversuchen dankbar.

Beschreibung der Versuche.

Gewinnung beider Bienen-Gift-Komponenten durch fraktionierte Dialyse.

1. Ansatz.

Die Fortsetzung des in der III. Mitteilung beschriebenen Dialysierversuches von 1.730 g Extrakt mit 60-proz. Alkohol, ist in ihrem Ergebnis aus nebenstehender Tabelle 2 ersichtlich.

Da bei der langen Dauer der Dialyse die zu dialysierende Lösung durch hineindiffundierendes Wasser die Hülse allmählich bis zum Rande erfüllte, mußte nach Dialysat 19 eingedampft werden. Beim Nachspülen der Hülse mit 1-n. Ameisensäure erwies sich ein beträchtlicher Teil der an der Hülse abgeschiedenen Stoffe als unlöslich und im Tierversuch unwirksam, weshalb er verworfen wurde. Das in Lösung Gegangene betrug 0.300 g, also mußten 0.3106 g in der Membran hängen geblieben sein. Die 0.300 g wurden erneut gelöst und weiterdialysiert.

Tabelle 2.

Fraktionierte Dialyse von 1.730 g Extrakt mit 60-proz. Alkohol, gelöst in 5 ccm dest. Wasser, gegen je 100 ccm verd. Ameisensäure von pH 4 bei 20°.

Fraktion	Dauer in Stdn.	Menge Trockensubstanz g	pH	$Mg_3(PO_4)_2$	Ergebnis der Tierversuche
1	24	0.3458	4	+	Der Tod tritt unter starken Krämpfen ein
2	24	0.1273	4	+	
3	24	0.0650	4	---	
4	25	0.0520	4	---	
5	24	0.0332	4	---	
6	24	0.0196	5.6	---	
7	24	0.0163	5.6	---	
8	24	0.0188	3.6	---	
9	48	0.0715	4	---	
10	48	0.0649	4	---	
11	48	0.0128	4	---	
12	48	0.0332	4	---	
13	48	0.0870	4	---	
14	48	0.0480	4	---	
15	48	0.0190	4	---	
16	48	0.0284	4	---	
17	48	0.0173	4	---	
18	48	0.0122	4	---	Exitus ohne Krämpfe, nur noch Lähmung
19	4 × 48	0.0471	4	---	
20	4 × 48	0.0572	4	---	
21	5 × 48	0.0168	4	---	
22	9 × 24	0.0140	4	---	
23	6 × 48	0.0087	4	---	
24	7 × 48	0.0547	4	---	
89 Tage		1.2608 g			

Nimmt man an, daß diese 0.300 g keine wesentlichen Mengen Ballaststoffe mehr enthalten, rechnet sie also zur Komponente II, dann ergibt sich ein vorläufiges Mengenverhältnis von:

60-proz. Extrakt:	1.730 g	etwa 50 %
Dialysat 1—11 = Komponente I:	0.8272 g	
Dialysat 12—19:	0.2922 g	} 0.5922 g etwa 30 %
und lösl. Rückst. = Komponente II:	0.3000 g	
unlöslicher u. unwirksamer Dialysier-Rückstand:	0.3106 g	etwa 20 %
	1.7300 g	

Hierbei ist zu berücksichtigen, daß insbesondere Komponente I noch stark mit Ballaststoffen vermischt ist.

Zur Analyse wurden die Trockenrückstände unmittelbar vor der Analyse über P_2O_5 im Hochvakuum bei Zimmertemperatur konstant getrocknet.
60-proz. Alkohol-Extrakt.

2.284 mg Sbst.: 0.247 ccm N_2 (25°, 749 mm). — 13.292 mg Sbst.: 1.170 mg $BaSO_4$. — 15.412 mg Sbst.: 10.620 mg $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3$.
Gef. N 12.25, S 1.21, P 1.00.

Frakt. 1. 4.592 mg Sbst.: 0.333 ccm N_2 (25°, 749 mm). — 8.519 mg Sbst.: 0.760 mg $BaSO_4$. — 8.913 mg Sbst.: 9.430 mg $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3$.
Gef. N 8.21, S 1.22, P 1.54.

- Frakt. 2. 4.576 mg Sbst.: 0.386 ccm N₂ (25.5°, 749 mm). — 10.619 mg Sbst.: 0.880 mg BaSO₄. — 17.572 mg Sbst.: 20.460 mg (NH₄)₃PO₄·12MoO₃.
Gef. N 9.55, S 1.14, P 1.69.
- Frakt. 3. 3.635 mg Sbst.: 0.352 ccm N₂ (27°, 734 mm). — 9.617 mg Sbst.: 11.225 mg (NH₄)₃PO₄·12MoO₃. — 9.231 mg Sbst.: 0.850 BaSO₄.
Gef. N 10.84, S 1.27, P 1.70.
- Frakt. 4. 4.891 mg Sbst.: 7.850 mg CO₂, 2.960 mg H₂O. — 3.607 mg Sbst.: 0.379 ccm N₂ (25°, 743 mm). — 10.368 mg Sbst.: 10.640 mg (NH₄)₃PO₄·12MoO₃.
Gef. C 42.78, H 6.77, N 11.80, P 1.49.
- Frakt. 9. 9.753 mg Sbst.: 0.825 mg BaSO₄. — 4.785 mg Sbst.: 8.670 mg CO₂, 3.330 mg H₂O. — 2.965 mg Sbst.: 0.372 ccm N₂ (23°, 764 mm). — 11.198 mg Sbst.: 6.405 mg (NH₄)₃PO₄·12MoO₃.
Gef. C 49.42, H 7.79, N 14.54, S 1.16, P 0.83.
- Frakt. 14—18. 4.730 mg Sbst.: 8.440 mg CO₂, 3.260 mg H₂O. — 3.073 mg Sbst.: 0.373 ccm N₂ (24°, 764 mm). — 14.020 mg Sbst.: 1.02 mg BaSO₄. — 15.268 mg Sbst.: 4.500 mg (NH₄)₃PO₄.
Gef. C 48.66, H 7.71, N 14.03, S 0.99, P 0.36.
- Dialysier-Rückstand nach der Fraktion 19.
5.010 mg Sbst.: 9.460 mg CO₂, 3.450 mg H₂O. — 2.973 mg Sbst.: 0.372 ccm N₂ (24° 764 mm). — 12.256 mg Sbst.: 1.260 mg BaSO₄. — 12.299 mg Sbst.: 1.300 mg (NH₄)₃PO₄·12MoO₃.
Gef. C 51.50, H 7.70, N 14.46, S 1.41, P 0.15.

Tierversuche: Für jede Fraktion wurden 2 Mäuse verwendet.

In der III. Mitteilung wurden bereits die Tierversuche mit den Fraktionen 1—4 und 8 mitgeteilt, ebenso wurde über die Wirkungen des danach in der Hülse verbliebenen Rückstandes berichtet. Die Fraktionen 1—8 töteten alle Tiere unter lebhaften Krämpfen, während der Dialysier-Rückstand nach der 8. Fraktion bereits so hochkonzentriert an Komponente II gewesen sein muß, daß die Tiere in kürzerer Zeit an den charakteristischen Lähmungserscheinungen eingingen, als sich Krämpfe entwickeln konnten.

- Frakt. 9. Konz.: 10 mg/ccm; 0.5 mg/g Maus subc. inj. töteten die Tiere unter schweren Krämpfen in 2½ Stdn.
- Frakt. 11. Konz.: 10 mg/ccm; 0.35 mg/g Maus subc. inj. töteten unter nur noch schwachen Krämpfen, aber nachträglichen deutlichen Symptomen der Komponente II in 5—8 Stdn.
- Frakt. 12. Konz.: 10 mg/ccm; 0.31 mg/g Maus subc. inj. töteten ohne jede Krampferscheinung unter den charakteristischen Symptomen der Komponente II.
- Frakt. 19. Konz.: 10 mg/ccm; 0.38 mg/g Maus subc. inj. töteten beide Tiere ohne Krämpfe unter den Lähmungserscheinungen der Komponente II.
- Frakt. 24. Konz.: 10 mg/ccm; 0.33 mg/g Maus töteten unter den Erscheinungen wie bei 19.

Säureerhitzung des Dialysates 19.

In der III. Mitteilung wurde die Beständigkeit der Komponente II gegen Erhitzung bei pH 4 an dem von immer noch relativ viel Ballaststoff begleiteten Dialysier-Rückstand der Fraktion 8 geprüft. Da diese Stoffe u. U. als Schutzkolloide wirken konnten, wurde die Säureerhitzung noch einmal mit dem wesentlich reineren Dialysat 19 durchgeführt. 7 mg des Dialysats 19 wurden in einigen Tropfen Wasser gelöst, mit 1-n. Ameisensäure auf pH 4 gebracht und 2 Stdn. im siedenden Wasserbade erhitzt. Dann wurde mit Ammoniak neutralisiert und auf 1 ccm aufgefüllt.

Konz. 7 mg/ccm; 0.36 mg/g Maus subc. inj. töteten die Tiere in 12—20 Stdn. unter den Symptomen der Komponente II. Die Tiere erscheinen aber unmittelbar

nach der Injektion frischer als die beim nicht erhitzten Versuch mit Fraktion 19. Sie versuchen z. B. Futter zu nehmen. Erst später werden sie dann zunehmend schwerer beweglich und empfindungsloser.

Es hat danach den Anschein, als ob die Komponente II nicht absolut säureunempfindlich sei. An zwei weiteren Versuchen mit dem Dialysat 20 und je zwei Versuchs-Tieren bestätigte sich diese Beobachtung. Auch hier gingen die Tiere erst nach durchschnittlich 48 Stdn. zugrunde, während die gleiche Dosis des nicht erhitzten Giftes bereits in 5—7 Stdn. tötete.

Erhitzen der (krampferregenden) Komponente I in neutraler Lösung.

In der III. Mitteilung wurde über die Unbeständigkeit der Komponente I beim Erhitzen mit Säure und Alkali berichtet. Um zu entscheiden, ob es sich allein um eine thermische Wirkung handelt, oder ob die Agenzien die Zerstörung der Wirkung verursachen, wurde der Versuch in neutraler Lösung wiederholt.

10 mg des Dialysates 3 wurden in 0.5 ccm Wasser gelöst. Die Lösung, die neutrale Reaktion zeigte, wurde im siedenden Wasserbade 2 Stdn. erhitzt, auf 1 ccm aufgefüllt und geprüft.

Konz.: 10 mg/ccm; 0.42 mg/g Maus (0.66 mg/g Maus) töteten unter starken Krämpfen, aber erst nach 36—48 Stdn., während die gleiche Dosis nicht erhitzten Giftes schon in durchschnittlich 6—10 Stdn. zum Tode führte.

Gewinnung beider Gift-Komponenten durch fraktionierte Dialyse.

2. Ansatz.

Um die im ersten Ansatz gewonnenen Erkenntnisse sicherzustellen, insbesondere um nachzuprüfen, ob bei der wahrscheinlich variierenden Porenweite verschiedener Hülsen (es wurden natürlich immer die gleich-dimensionierten Papierhülsen von Schleicher und Schüll verwendet) die Reproduzierbarkeit der Trennung gewährleistet ist, wurde ein zweiter Dialyseransatz gemacht:

3.5151 g Extrakt mit 60-proz. Alkohol wurden in 12 ccm Wasser gelöst und wie unter I gegen je 100 ccm dest. Wasser, das mit einigen Tropfen Ameisensäure auf $p_{H}4$ gebracht war, dialysiert. Die Ameisensäure verhindert gleichzeitig das Faulwerden der Lösung. Die Ergebnisse sind in der Tab. 3 wiedergegeben.

Hier ist die Trennung offensichtlich sehr viel weniger scharf erfolgt. Zwar herrscht schon von Dialysat 17 an die Komponente II vor, es dauert aber noch geraume Zeit, bis das Dialysat frei von Krampfgift ist. Die Porenweite dieses Filters ist offenbar ungeeigneter. Im Prinzip kann die Trennung der beiden Komponenten jedoch als reproduzierbar betrachtet werden.

Das sich aus diesem Versuch ergebende Mengenverhältnis der beiden Komponenten ist aus diesem Grunde natürlich nicht maßgebend.

Tierversuche: Zu jeder Fraktion wurden wieder 2 Tiere verwendet.

Frakt. 12. Konz.: 10 mg/ccm; 0.31 mg/g Maus subc. inj. töteten die Tiere unter heftigen Krämpfen in 5—7 Stdn.

Frakt. 15. Konz.: 10 mg/ccm; 0.52 mg/g Maus subc. inj. Beide Tiere bekamen etwa 1 Stde. nach der Injektion starke Krämpfe, die aber nach 2 Stdn. bei Seitenlage in die Lähmungserscheinungen übergingen, wie sie durch Komponente II hervorgerufen werden.

- Frakt. 17. Konz.: 10 mg/ccm; 0.54 mg/g Maus subc. inj. rufen nach etwa 45 Min. Krämpfe hervor; indessen können sich die Tiere stets dabei auf den Beinen halten, während sie sonst oft 10 cm hoch geschleudert werden. Nach 3 Stdn. tritt Seitenlage ein bei nur noch schwacher Bewegung. Exitus nach 5—7 Stdn.
- Frakt. 20. Konz.: 10 mg/ccm; 0.34 mg/g Maus subc. inj. töten die Tiere unter nur noch schwachen Krämpfen unter den Symptomen der Komponente II, d. h. sie sitzen völlig ruhig am selben Fleck, reagieren kaum auf Reize und verenden in der gleichen normalen Sitzstellung nach 4—5 Stdn.
- Frakt. 22. Konz.: 10 mg/ccm; 0.47 mg/g Maus. Die Tiere bekommen nur ab und zu krampfartige Zuckungen von etwa $\frac{1}{4}$ Min. Dauer. Sie verenden unter den Symptomen der Komponente II.
- Frakt. 24. Konz.: 10 mg/ccm; 0.23 mg/g Maus subc. inj. Die Tiere bekommen keine Krämpfe mehr und verenden nach 10—15 Stdn. unter den Symptomen der Komponente II.
- Frakt. 28—34. Erscheinungen wie bei Frakt. 24.

Tierversuche mit Schlangengift (*Bothrops alternata*).

Konz.: 2 mg/ccm; 0.08 mg/g Maus (0.085 mg/g Maus). In beiden Fällen trat nach 30—40 Min. bereits Seitenlage ein. Der Tod erfolgte ohne jede Krampferscheinung nach 1 Stde. Der Unterschied gegenüber der Komponente II des Bienengiftes besteht, den äußeren Symptomen nach, nur in der bedeutend kräftigeren Wirkung.

Tabelle 3.

Fraktion	Dauer in Stdn.	Menge Trockensubstanz g	PH	Mg ₃ (PO ₄) ₂	Ergebnis der Tierversuche
1	24	0.7320	4	+	Exitus unter starken Krämpfen
2	24	0.3900	4	+	
3	24	0.1946	4	—	
4	24	0.1362	4	—	
5	24	0.1021	4	—	
6	24	0.0768	4	—	
7	24	0.0591	4	—	
8	24	0.0608	4	—	
9	48	0.1130	4	—	
10	24	0.0484	4	—	
11	24	0.0418	4	—	noch Krämpfe, aber schwächer
12	48	0.0658	4	—	
13	48	0.0492	4	—	
14	48	0.0412	4	—	
15	48	0.0750	4	—	
16	48	0.0532	4	—	nur noch geringe Krämpfe
17	48	0.0508	4	—	
18	48	0.0533	4	—	
19	48	0.0308	4	—	keine Krämpfe mehr, nur noch Komponente II
20	48	0.0526	4	—	
21	48	0.0438	4	—	
22	48	0.0370	4	—	
23	48	0.0452	4	—	
24	48	0.0322	4	—	
25—27	3 × 48	0.1177	4	—	
28—34	7 × 48	0.1742	4	—	
	58 Tage	2.8768 g			