

XXVII.

Zur Kenntniss des Giftes der Miesmuschel (*Mytilus edulis*).

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes
zu Berlin.)

Von Prof. E. Salkowski.

Mitte October ereigneten sich in Wilhelmshaven eine Reihe von Vergiftungen in Folge des Genusses von Miesmuscheln¹⁾, welche zum Theil tödtlich verliefen. Herr Geheimrath Prof. Virchow, an welchen durch die freundliche Vermittlung des Herrn Kreisphysicus Schmidtman n ein Quantum Miesmuscheln von notorisch derselben Provenienz gesendet war, übertrug mir die chemische Untersuchung derselben, über welche ich in Folgendem Bericht erstatte.

In erster Linie handelte es sich darum, ein zweckmässiges Extractionsmittel für die in den Muscheln supponirte giftige Substanz zu finden, sowie die Grösse der Dosis toxica resp. letalis bezogen auf das Trockengewicht der Substanz festzustellen, die einen werthvollen Anhalt für die Isolirungsversuche bildet. Ich wählte zur Extraction zunächst Alkohol, in der Absicht, die jedenfalls sehr störenden Eiweisskörper, sowie das Mucin und Glycogen von vornherein loszuwerden.

Die giftigen Muscheln im Gewicht von 170 g (feucht) wurden direct in Alkohol (95procentigen) gelegt, am nächsten Tage aus den Muscheln, die sich inzwischen geöffnet hatten, die Weichtheile herauspräparirt, mit Sand verrieben, der erhaltene Brei wiederum mit dem vorher benutzten Alkohol übergossen und einige Stunden im Kolben auf dem Wasserbad digerirt, dann filtrirt und mit Alkohol nachgewaschen.

Das Gewicht der Muschelschalen betrug 69 g, somit das der Weichtheile rund 100 g.

¹⁾ Vgl. den Vortrag des Herrn Geheimrath Virchow in der Sitzung der Berl. med. Gesellsch. am 11. Nov. 1885. Berl. klin. Wochenschr. No. 48.

Der erhaltene alkoholische Auszug war intensiv gelbbraun, mit einem Stich in's Grünliche gefärbt, sein Volumen betrug nach Zusatz von etwas Alkohol zur Abrundung 800 ccm. Somit entsprechen je 8 ccm 1 g Muschelsubstanz oder 1 ccm des Auszuges 0,125 g Muschelsubstanz. Wir bezeichnen im Folgenden diesen Auszug mit A.

Die aus der ersten Alkoholextraction gebliebene, nur wenig gefärbte Masse wurde wieder in den Kolben gebracht und nochmals mit relativ grossen Quantitäten Alkohol mehrere Stunden auf dem Wasserbad digerirt, dann filtrirt, das Volumen des Fitrates durch Alkoholzusatz auf 800 ccm ergänzt: Auszug „B“. Der Auszug war goldgelb gefärbt.

Der nunmehr gebliebene Rückstand wurde mit Alkohol behandelt, dem 8 Tropfen officinelle Salzsäure zugesetzt waren, filtrirt, nachgewaschen, das Volumen dieses schwach grasgrün gefärbten Auszuges „C“ wurde gleichfalls auf 800 ccm gebracht.

Nunmehr wurde der Alkohol aus dem rückständigen Pulver durch Liegenlassen an der Luft möglichst entfernt, das Pulver verrieben, wiederholt mit Wasser ausgekocht; der Auszug, der reichlich Glycogen enthielt, wurde, da er voraussichtlich nicht in demselben Grade giftig war, wie die vorhergehenden, sofort auf 100 ccm eingedampft: „Auszug D“. Der Auszug war ganz ungefärbt, opalisirend in Folge des reichen Gehaltes an Glycogen, das bei Alkoholzusatz als schneeweisser Niederschlag ausfiel. 1 ccm dieses Auszuges entsprach 1 g Muschelsubstanz.

Mit den Auszügen wurden folgende Versuche angestellt, um ihre relative Giftigkeit festzustellen.

Wirkung des Alkoholauszuges A.

Versuch 1.

Um zunächst zu erproben, ob die giftige Substanz der Muscheln überhaupt in den Alkoholauszug übergegangen, wurden 50 ccm desselben entsprechend 6,25 g Muscheln auf dem Wasserbad bei gelinder Wärme in einer flachen Schale unter Zusatz von etwas Wasser verdampft. Es schied sich dabei ein intensiv grünlich-braun gefärbtes Oel an der Wandung der Schale aus, während die wässrige Lösung nur sehr schwach gefärbt erschien. Sie reagierte stark sauer. Dieselbe wurde filtrirt, wobei sie fast ganz klar wurde, und fast die ganze Quantität (etwas über 2 ccm) einem Kaninchen (A) von 1000 g Körpergewicht unter die Haut gespritzt. Nach einigen Augenblicken fiel das Thier auf die Seite, schnappte einmal nach Luft und war todt.

Versuch 2.

50 ccm des Auszugs A wurden wie vorher verdampft, in Wasser aufgenommen, filtrirt, das Filtrat auf das Volumen von 25 ccm gebracht, dasselbe erschien nur schwach gelb und fast klar. 1 ccm desselben wurde einem Kaninchen von 810 g Körpergewicht unter die Haut gespritzt. In den ersten Minuten war an dem Thier nichts Auffallendes zu bemerken. Nach 10 Minuten bekam das Thier leichte Zuckungen, schnappte nach Luft unter Oeffnung des Maules und war in $1\frac{1}{2}$ Minuten todt. Speichelfluss nicht vorhanden, 10 ccm dieser Lösung hinterliessen beim Eindampfen und Trocknen bei 100° 0,0910 g Substanz; beim Veraschen blieben 0,0098 g unverbrennlicher Rückstand, also 0,0812 organische Substanz, somit enthielt 1 ccm 0,008 organische Substanz. Der Rückstand hatte das Aussehen von Pepton und roch beim Veraschen nach verbrennendem Eiweiss.

Versuch 3.

Zum Zweck der weiteren chemischen Untersuchung war es wünschenswerth, die Quantität Substanz festzustellen, welche noch giftige Wirkungen hatte, aber nicht mehr letale. Von der in den vorigen Versuchen benutzten Lösung wurde daher 1 ccm auf 10 ccm verdünnt und 1 ccm davon einem Kaninchen (C) von 850 g unter die Haut gespritzt. Nach Ablauf 1 Stunde waren keine Symptome aufgetreten. Es wurde daher von den bisher benutzten Lösungen $\frac{2}{3}$ ccm injicirt: nach Ablauf 1 Stunde keine Wirkung. Nun wurde 1 ccm injicirt, nach 10 Minuten leichte Zuckungen, 1 Minute später ist das Thier todt. Die Pupillen kurz vor Eintritt des Todes weit, anscheinend reactionslos. Kein Speichelfluss.

Versuch 4.

Nachdem durch die bisherigen Versuche festgestellt, dass die Dosis letalis zwischen $\frac{2}{3}$ und 1 ccm der benutzten Lösung liegt (für Kaninchen von 800—1000 g), wurde nunmehr einem Kaninchen (D) von 860 g Körpergewicht 0,6 ccm injicirt, nachdem bei demselben Thier einige Stunden vorher 1 ccm der auf $\frac{1}{10}$ verdünnten Lösung sich unwirksam erwiesen hatte.

11 Minuten nach der Einspritzung leichte Zuckungen, äusserste Dyspnoe, das Thier fällt auf die Seite, ist in kaum 2 Minuten todt. Kein Speichelfluss, die Pupillen weit, im Moment des Todes sich eng zusammenziehend, unwillkürliche Harnentleerung.

Nach diesem Versuche genügen 0,0055 g des Trockenrückstandes der aus dem Alkoholauszug A hergestellten wässrigen Lösung zur Tödtung eines Kaninchens von etwa 900 g Körpergewicht. Zieht man in Betracht, dass von diesem Trockenrückstand jedenfalls ein ansehnlicher Theil durchaus indifferenter Natur, vielleicht nur ein geringer Bruchtheil wirklich wirksame Substanz ist, so ergiebt sich daraus, dass das „Muschelgift“ zu den stärksten Giften gehört, die wir kennen. Die Dosis toxica

und Dosis letalis liegen einander bei Warmblütern offenbar sehr nahe, wenigstens wenn die ganze Quantität der wirksamen Substanz auf einmal, d. h. in sehr kurzer Zeit resorbiert wird. Für die Vergleichung der Giftwirkung konnte daher nur die Dosis letalis benutzt werden.

Versuch 5.

Ein grosser kräftiger Frosch erhält 0,4—0,5 ccm der bisher benutzten Lösung unter die Rückenhaut. Nach einigen Minuten erscheint er gelähmt, ohne dass Krämpfe vorausgegangen sind, nach etwa einer Viertelstunde sistirt die vorher mühsame Athmung, der Frosch ist gänzlich reactionslos. Das freigelegte Herz pulsirt, die Pulsationen werden noch stundenlang als fort-dauernd constatirt.

Versuch 6.

Ein grosser kräftiger Frosch erhält 0,6 ccm der auf das Zehnfache verdünnten Lösung; innerhalb mehrerer Stunden keine Wirkung zu bemerken.

Wirkung des Alkoholauszuges B.

Versuch 7.

12 ccm des Auszuges werden bei gelinder Wärme verdampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, in dem er sich fast vollständig löst und die erhaltene etwas trübe Lösung einem Kaninchen E von etwa 1000 g Körpergewicht unter die Haut gespritzt: keine Wirkung.

Da 1,2 ccm des ersten Alkoholauszuges A genügt hatten, um ein Kaninchen zu tödten, so enthält der zweite Alkoholauszug noch nicht $\frac{1}{10}$ soviel toxischer Substanz, wie der Auszug A.

Dasselbe ergeben die Versuche an Fröschen.

Versuch 8.

50 ccm des Alkoholauszuges B verdampft, in Wasser aufgenommen auf 25 ccm gebracht, filtrirt, nahezu 1 ccm = 0,25 g Muscheln einem Frosch unter die Haut gebracht: keine Wirkung.

Versuch 9.

50 ccm verdampft, in Wasser aufgenommen, filtrirt, das Filtrat auf 4 ccm eingengt. Davon werden 0,5 ccm = 6 ccm Alkoholauszug einem Frosch unter die Haut gebracht; nach etwa 10 Minuten erscheint derselbe gelähmt, die Athmung cessirt nach vorangegangener Dyspnoe. Das Herz pulsirt lebhaft. Am nächsten Tage ist das Thier völlig erholt.

Wirkung des sauren Alkoholauszuges C.

Versuch 10.

50 ccm werden verdampft, auf 25 ccm gebracht, filtrirt. Von dieser Lösung 1 ccm entsprechend 0,25 g Muschel einem Kaninchen F von 890 g Körpergewicht unter die Haut gebracht: keine Wirkung.

Versuch 11.

4 ccm Alkoholauszug C entsprechend 0,5 g Muscheln verdampft, in Wasser aufgenommen und die Lösung möglichst vollständig einem Kaninchen von 1390 g Körpergewicht unter die Haut gebracht: keine Wirkung.

Versuch 12.

12 ccm Alkoholauszug C entsprechend 1,5 g Muscheln am nächsten Tage demselben Kaninchen unter die Haut: Tod in 10 Minuten unter ziemlich starken Krämpfen.

Versuch 13.

Von der in Versuch 10 benutzten Lösung erhält ein Frosch 0,5 ccm: nach 10 Minuten beginnende Lähmung, die bald vollständig wird, Aufhören der Athmung; am nächsten Tage besteht die Lähmung noch fort, nach 2mal 24 Stunden hat sich das Thier völlig erholt.

Wirkung des wässrigen Auszuges D.

Versuch 14.

1 ccm der wässrigen Lösung D entsprechend 1 g Muscheln einem Kaninchen H von 920 g Körpergewicht unter die Haut gespritzt: keine Wirkung.

1,6 ccm: keine Wirkung.

10 ccm auf 2 verdampft, auf einmal eingespritzt: Tod in 7 Minuten.

Versuch 15.

Ein Frosch erhält $\frac{1}{2}$ ccm der Lösung: keine Wirkung, ein anderer 1 ccm: nach längerer Zeit Lähmungserscheinungen, am nächsten Tag völlig erholt.

Sind nun auch die Versuche bei Weitem nicht zahlreich genug, um genaue Zahlenangaben über den Grad der Giftigkeit der einzelnen Lösungen zu ermöglichen, — ich bemerke übrigens, dass bei Weitem nicht alle Versuche aufgeführt sind, namentlich nicht diejenigen mit zu kleinen und wirkungslosen Dosen — so lassen sie doch dasjenige erkennen, worauf es mir besonders ankam. Mir lag vor Allem daran, sicher zu sein, dass ich die wirksamste Lösung zu den Isolirungsversuchen wählte und nicht etwa eine wirksamere Lösung unbeachtet bei Seite liegen liess. Bei Weitem am giftigsten erwies sich unzweifelhaft die erste alkoholische Lösung A (ich bemerke nochmals, dass in allen drei alkoholischen Lösungen das Verhältniss von Muschelsubstanz zu Alkohol dasselbe war, nemlich 1:8, sie also direct vergleichbar sind): von ihr genügten 1,2 ccm = 0,125 g Muscheln resp. 0,6 ccm der aus dem ersten Alkoholauszug hergestellten, doppelt so starken wässrigen Lösung, um ein Kaninchen von 900 g Körpergewicht zu tödten (Versuch 4); der zweite alkoholische Auszug steht an Giftigkeit bedeutend

nach: die 10fache Dosis, entsprechend 1,25 g Muschel, hatte bei Kaninchen keinen Effect. Dagegen ist der dritte saure Alkoholauszug unzweifelhaft stärker wirksam: die 10fache Dosis, entsprechend 1,25 g Muschel hatte eine sehr acute Wirkung, die übrigens in den Erscheinungen etwas abwich.

Am wenigsten wirksam erwies sich der vierte, wässrige Auszug: 1,6 ccm desselben, entsprechend ebensoviel g Muschel, hatte keine Wirkung, die Dosis von 10 ccm = 10 g Muschel eine sehr acute Wirkung. Selbstverständlich gilt dieses nicht für den wässrigen Auszug überhaupt, sondern nur für die Muscheln, die vorher in der beschriebenen Weise erschöpft sind. Man kann sich leicht überzeugen, dass auch wässrige Abkochungen direct aus den zerkleinerten Muscheln hergestellt, eine sehr intensive Wirkung äussern.

Was die Erscheinung betrifft, dass der angesäuerte Alkohol bei der dritten Extraction mehr toxische Substanz aufnimmt, wie der nicht angesäuerte bei der zweiten, so sind hierfür verschiedene Erklärungen denkbar: man kann sich vorstellen, dass das Gift eine basische Substanz ist, die in Alkohol schwer löslich, deren salzsaures Salz aber in Alkohol leicht löslich ist, oder dass die Salzsäure eine Spaltung bewirkt, durch welche toxische Substanz entsteht oder — und das ist wohl das Wahrscheinlichste — dass die Säure eine bessere „Aufschliessung“ des organischen Gewebes herbeiführt.

Jedenfalls ist der erste Alkoholauszug der bei Weitem wirksamste und man wird mir beistimmen, wenn ich diesen zunächst zu Isolirungsversuchen wählte, wiewohl der saure Alkoholauszug C den Vortheil bietet, dass er ausserordentlich arm an fester Substanz ist: der Rückstand, den 12 ccm lassen, ist in der That kaum sichtbar.

Ehe ich auf die bisher ziemlich erfolglosen Isolirungsversuche eingehe, seien noch 2 Beobachtungen erwähnt, welche Hinweise auf die Natur der toxischen Substanz zu geben schienen. Es dienten zu denselben Reste der aus dem Alkoholauszug A hergestellten wässrigen Lösung, welche von den Versuchen 2—6 noch übrig geblieben waren.

Zunächst wurde constatirt, dass die wässrige, sauer reagierende Lösung zur Trockne gedampft und der Rückstand etwa

7 Minuten auf 110° erhitzt werden konnte, ohne — nach Versuchen an Fröschen — an Wirksamkeit merklich einzubüssen. Weiterhin ergab sich, dass intensiv giftige wässrige Lösungen unwirksam wurden, sobald man sie auf dem Wasserbad unter Zusatz von etwas kohlensaurem Natron zur Trockne dampfte. Ich vermuthete danach zuerst, dass die toxische Substanz ein flüchtiges Alkaloid sein könnte.

Was nun die Versuche zur näheren Isolirung betrifft, so konnte ich mir von vornherein nicht verhehlen, dass es schwerlich möglich sein würde, die Reindarstellung der toxischen Substanz soweit zu fördern, dass die Elementarzusammensetzung durch die Analyse festgestellt werden konnte, oder überhaupt eine chemisch reine Substanz sichergestellt werden konnte. Dazu waren die zu Gebot stehenden Quantitäten zu gering.

Der erste Alkoholauszug enthält nach Ausweis der Trockenbestimmung im Ganzen $0,812 \times 8 = 6,496$ g organische Substanz, wovon vielleicht nicht der 10. Theil der giftigen Substanz angehörte. Ausserdem war von dieser Lösung schon 100 ccm ($\frac{1}{8}$) verbraucht, es standen also höchstens $0,812 \times 7 = 5,684$ organische Trockensubstanz zur Verfügung. Da es wünschenswerth erschien, einen kleinen Rest auf alle Fälle zu reserviren, wurden nicht 700, sondern nur 650 ccm des Alkoholauszuges A zu den Isolirungsversuchen verwendet, entsprechend $0,812 \times 6,5 = 5,278$ Trockensubstanz, entsprechend 81,25 g Muscheln.

Die angegebene Quantität des Alkoholauszuges wurde auf mehreren grossen Schalen bei gelinder Wärme verdunstet, gegen Ende der Verdampfung Wasser hinzugesetzt, nach völligem Erkalten filtrirt; das wässrige Filtrat wurde stark eingedampft und in absoluten Alkohol in dünnem Strahl eingegossen, wodurch sofort ein zäher, schnell zusammenbackender Niederschlag entstand. Das Gemisch blieb zur völligen Abscheidung alles unter den Verhältnissen Fällbaren 3mal 24 Stunden im verschlossenen Kolben stehen. Der klare abgegossene Alkoholauszug A 1 wurde, nachdem seine Giftigkeit constatirt war, mit Platinchlorid versetzt, wodurch alsbald ein gelblichweisser Niederschlag in nicht ganz geringer Menge entstand, der sich auf Aetherzusatz noch beträchtlich vermehrte. Er wurde abfiltrirt und mit absolutem Alkohol gewaschen, das platinhaltige Filtrat bei ganz gelinder

Wärme, zuletzt im Luftstrom verdunstet und zur Krystallisation gestellt.

Der Platinniederschlag löste sich nur z. Th. in heissem Wasser; Lösung und Niederschlag wurden, jeder für sich, durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die erhaltenen von Schwefelwasserstoff befreiten Filtrate erwiesen sich gänzlich unwirksam, somit bildet die wirksame Substanz keine in Alkohol-Aether unlösliche Platinverbindung.

Aus der zur Krystallisation hingestellten syrupösen Flüssigkeit krystallisirten nur unorganische Salze aus; mit Wasser verdünnt und durch Schwefelwasserstoff von Platin befreit etc. erwies sich diese syrupöse Lösung noch wirksam.

Ich gehe nun etwas näher auf die schon vorher erwähnte, höchst auffällige Beobachtung ein, welche ursprünglich in dem Sinne gedeutet war, dass das Gift ein flüchtiges Alkaloid sei, die Beobachtung nemlich, dass wirksame Lösungen stets unwirksam werden, wenn man sie mit etwas kohlensaurem Natron auf dem Wasserbad eindampft oder damit kocht. Die Thatsache ist durch eine grosse Zahl von Versuchen erhärtet, von denen ich hier nur einige als Beispiele anführe.

Versuch 16.

Je 1,5 ccm des Alkoholauszuges A werden in 2 Schälchen verdampft, der Rückstand in etwas Wasser gelöst, zu der einen Probe a 2 Tropfen gesättigte Lösung von kohlensaurem Natron gesetzt, zu b nicht, wieder verdampft und beide Rückstände, in wenig Wasser gelöst, je einem Frosch injicirt. Der Frosch, der b bekommen hatte, war alsbald gelähmt, der a erhalten hatte, blieb munter. Zur Controle wurden wieder 1,6 ccm verdampft, der Rückstand erkalten gelassen, in Wasser aufgenommen, 2 Tropfen kohlensaures Natron zugesetzt, einem Frosch injicirt, der Frosch war alsbald gelähmt.

Versuch 17.

1 ccm der Lösung A 1 verdampft, Rückstand in Wasser, 2 Tropfen kohlensaures Natron zugesetzt, einem Kaninchen J von 820 g Körpergewicht unter die Haut, nach 15 Minuten wird das Thier todt gefunden. 1,6 ccm derselben Lösung in der bei Versuch 14 beschriebenen Weise mit kohlensaurem Natron verdampft, einem Kaninchen K von 760 g Körpergewicht unter die Haut. Das Thier erscheint nach $2\frac{1}{4}$ Stunden noch ganz munter.

Jetzt 2 ccm derselben Lösung ebenso mit Na_2CO_3 , das Thier ist nach 1 Stunde noch munter; nunmehr 1,6 ccm ohne Na_2CO_3 verdampft und injicirt, das Thier ist nach 13 Minuten todt.

Versuch 18.

20 ccm des Alkoholauszuges A 1 werden verdunstet, der Rückstand in 20 ccm Wasser gelöst — Reaction sauer und in einem Siedekölbchen destillirt. Nachdem etwa 5 ccm überdestillirt, wird die Destillation unterbrochen und von der rückständigen Flüssigkeit 0,5 ccm, vom Destillat 1 ccm einem Frosch unter die Haut gebracht. Der erste Frosch ist alsbald gelähmt, der zweite bleibt munter. Die wirksame Substanz geht somit bei saurer Reaction nicht in das Destillat über.

Nunmehr wurden zu dem Inhalt des Siedekölbchens 15 Tropfen gesättigte Lösung von kohlen saurem Natron gesetzt und wieder destillirt, bis etwa 5 ccm übergegangen waren. Etwa 1 ccm des schwach alkalischen Destillates einem Frosch injicirt, hatte keine Wirkung, ebenso erwies sich auch der Rückstand unwirksam, sowohl direct injicirt, als auch nach Neutralisirung mit Salzsäure.

Versuch 19.

Die ganze aus dem Platinversuch resultirende stark wirksame Lösung wurde mit kohlen saurem Natron alkalisirt und destillirt, Destillat und Rückstand erweisen sich nach Versuchen an Fröschen völlig unwirksam.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1) Die toxische Substanz geht nicht mit Wasserdämpfen über, auch nicht aus einer alkalisirten Lösung.

2) Die toxische Substanz wird durch Kochen mit kohlen saurem Alkali zersetzt. Es handelt sich dabei in der That um eine Einwirkung des Alkali auf das Gift, nicht um eine etwaige Wirkung des kohlen sauren Natron als Gegengift im Körper, denn: Zusatz von kohlen saurem Natron in der Kälte vermindert die Giftigkeit wirksamer Lösungen nicht und Neutralisiren der entgifteten Lösungen mit Salzsäure macht sie nicht wieder wirksam.

In Besitz von etwas neuem Material gekommen, suchte ich vor Allem diese Beobachtungen zu bestätigen.

Versuch 20.

Eine nicht näher bestimmte Quantität Muscheln, deren Giftigkeit vorher erprobt war vom Schiff „Otter“, wurde mit Wasser in der Reibschale sammt den Schalen verrieben und zum Kochen erhitzt, durch Leinwand colirt, das Volumen betrug 32 ccm, es wird in 2 gleiche Hälften a und b à 16 ccm getheilt.

Hälfte a. 1) 2 ccm einem Kaninchen L von 890 g Körpergewicht unter die Haut gespritzt, Tod nach 20 Minuten.

2) Der Rest von 14 ccm mit 14 ccm kohlen saurer Natronlösung versetzt und davon 2 ccm einem Kaninchen M von 1080 g unter die Haut gespritzt. Tod nach 12 Minuten.

Hälfte b mit 16 Tropfen kohlensaurer Natronlösung in einem kleinen Kölbchen zum Sieden erhitzt, 10 Minuten darin erhalten, von ausgeschiedenen Flocken durch ein trocknes Filter abfiltrirt, 4 ccm der stark concentrirten Flüssigkeit einem Kaninchen N von 870 g unter die Haut: das Thier bleibt völlig munter.

Durch diesen Versuch war also festgestellt, dass man aus den giftigen Muscheln hergestellte Decocte durch Kochen mit einer relativ kleinen Menge kohlensauren Natron entgiften kann. Das kohlensaure Natron — bei längerem Kochen genügen 3 bis $3\frac{1}{2}$ g Natron carbon. siccum auf 1 Liter Wasser — liesse sich durch Neutralisiren mit Salzsäure in Kochsalz überführen, somit für den Geschmack beseitigen. Es sollte nun ermittelt werden, ob auch die Muscheln selbst dieser Einwirkung unterliegen. Auch dieses konnte mit Sicherheit festgestellt werden, freilich verloren die Versuche an Prägnanz etwas dadurch, dass die hiezu verwendeten Muscheln (vom Schiff „Otter“ 2. Sendung) an sich schwächer wirkten und dass die Giftigkeit der Muscheln überhaupt durch das Kochen erheblich abgeschwächt wird: es geht eben ein grosser Theil des Giftes in das Wasser über.

Versuch 21.

2 Portionen von je 30 g Muscheln mit Schale werden mit je 100 ccm Wasser, das in dem einen Falle (a) 2 ccm gesättigter Lösung von kohlensaurem Natron enthielt, in dem anderen (b) nicht, zum Sieden erhitzt und etwa 2 Minuten darin erhalten. Die Versuchsbedingungen wurden für die beiden Portionen, soweit nur irgend möglich, gleichmässig gehalten. Nach dem Abkochen wurde der wässrige Auszug abgegossen, die Muscheln sorgfältig auf einem Durchschlag mit Wasser nachgespült und die Weichtheile herauspräparirt. Das Gewicht derselben war bei a und b fast ganz gleich, nemlich 9 g. Nunmehr wurden durch Verreiben und Auskochen mit Alkohol Auszüge hergestellt, die Auszüge verdunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen und die ganze Lösung — die auch bei a nicht alkalisch reagirt, sammt dem darin suspendirten Fett 2 Kaninchen unter die Haut gespritzt. Kaninchen O von 1175 g Körpergewicht erhielt das aus a, Kaninchen P von 1320 g Körpergewicht das aus b gewonnene Extract.

Kaninchen P war in etwa 20 Minuten todt, Kaninchen O bekam nach einer Stunde ziemlich starke Symptome: Herunterfallen des Kopfes, Ausgleiten der Extremitäten, Dyspnoe, die etwa 1 Stunde dauerten, am nächsten Tage war es wieder ganz munter.

Versuch 22.

Dieser Versuch ist eine genaue Wiederholung des vorigen, nur wogen die Weichtheile bei a wieder 9 g, bei b dagegen nur 6 g. Dementsprechend

wurden aus a 72 ccm Alkoholauszug hergestellt, aus b dagegen nur 48. Die beiden Auszüge mussten also gleich wirksam sein. Von jedem Auszug wurden 32 ccm, wie oben beschrieben, verdampft und injicirt. Kaninchen R von 1170 g Körpergewicht erhielt den Auszug aus a, Kaninchen S von 1450 g den Auszug b.

Kaninchen S, das stärkere Thier, bekam nach 8 Minuten Vergiftungserscheinungen und war nach weiteren 10 Minuten todt, Kaninchen R hatte gar keine Vergiftungserscheinungen und erschien auch am nächsten Tage ganz munter.

Durch diese Versuche ist, glaube ich, wohl überzeugend, dargethan, dass auch das Kochen der Muscheln selbst unter Zusatz von kohlensaurem Natron — die angewendete Quantität desselben entspricht etwa $3-3\frac{1}{2}$ g Natron carbon. pur. siccum auf 1 Liter Wasser — die Giftigkeit derselben ganz erheblich herabsetzen, unter Umständen aufheben kann; ich sage nicht, dass es mit Sicherheit die Giftigkeit aufhebt, denn dabei werden noch mancherlei Momente, namentlich die Grösse der Muscheln sehr wesentlich in Betracht kommen. So lange man sichere äussere Kriterien zur Unterscheidung der giftigen Muscheln von den ungiftigen nicht hat, wird man immerhin den Zusatz von kohlensaurem Natron empfehlen können, es setzt mindestens die Wahrscheinlichkeit der Vergiftung erheblich herab. In jedem Fall ist aber vor dem Genuss der ungekochten Muscheln zu warnen, die weit geringere Giftigkeit der gekochten Muscheln gegenüber den ungekochten lässt sich stets mit Evidenz darthun, natürlich ist dabei vorausgesetzt, dass man bei den gekochten die Brühe sorgfältig entfernt. Inwieweit unter Zusatz von kohlensaurem Natron gekochte Muscheln noch den Geschmacksbedürfnissen entsprechen, das ist eine Frage, die ich selbst zu prüfen, unter dem Eindruck der Untersuchungen begreiflicher Weise wenig Neigung hatte.

Werfen wir nun noch einen Blick auf die Symptome der Vergiftung, zunächst bei Fröschen.

Wenige Minuten nach Einführung einer Quantität wässriger Lösung aus dem Alkoholauszug A, welche etwa 0,002–0,003 g Trockenrückstand entspricht, sinkt zuerst der Kopf des Thieres herunter, ab und zu wird der Kopf fast gewaltsam wieder erhoben, sinkt aber immer wieder herab. Die Athmung wird mühsam, das Thier verliert die Haltung und sinkt mit dem

Bauch auf die Unterlage. Muskelzuckungen treten nicht auf, die schwachen Zuckungen, die man mitunter bemerkt, sind wohl als intendirte Bewegungen, als Versuche zu Aenderungen der Lage aufzufassen. Wenige Minuten darauf sistirt die Athmung vollständig, der Frosch liegt regungslos da, lässt sich in jede Lage bringen, ohne Widerstand zu leisten und reagirt auf die stärksten mechanischen Reize nicht mehr; er ist vollkommen gelähmt und die Reflexerregbarkeit erloschen. Wann dieses Stadium eintritt, hängt natürlich von der Grösse der Dosis ab. Legt man in diesem Stadium das Herz frei, so sieht man langsame und regelmässige, ziemlich ausgiebige Pulsationen. Tödtet man den Frosch in dem Stadium der vollkommenen Lähmung und prüft die faradische Erregbarkeit, so ergiebt sich Folgendes: Der Ischiadicus des Nervenmuskelpräparates ist auch für die stärksten faradischen Ströme vollkommen unerregbar, die directe Muskel-erregbarkeit ist vorhanden, aber, verglichen mit dem Verhalten eines mit Curare vergifteten Frosches, bedeutend herabgesetzt.

Ueberlässt man das Thier unter geeigneten Bedingungen sich selbst, so wird auch die schwerste Vergiftung fast ausnahmslos überwunden: nach 24 Stunden oder nach 2—5 Tagen erscheint das Thier völlig erholt.

Auch bei Kaninchen beobachtet man nach subcutaner Einspritzung von 0,0055—0,0080 g des Trockenrückstandes als erstes Symptom das Herabsinken und Seitwärtsneigen des Kopfes, der mit Mühe erhoben wird, um immer wieder herabzusinken. Sobald dieses ominöse Symptom eingetreten, sieht man auch die Athmung mühsam werden und die mühsame Athmung wird schnell zur äussersten Dyspnoe. Gleichzeitig oder sehr bald darauf beobachtet man Ausgleiten der Vorderpfoten und Hinterpfoten: Das Thier ist nicht im Stande, seine Haltung zu bewahren, die Versuche, die verlorene Haltung wiederzugewinnen, führen zu krampfhaften Bewegungen, die jedoch selten den Charakter wirklicher klonischer Krämpfe annehmen, schliesslich fällt das Thier auf die Seite und stirbt unter äusserster Dyspnoe (Oeffnung des Maules) mit schwachen Zuckungen oder ganz ohne diese, nur selten mit stärkeren Zuckungen. Von dem Moment der ersten deutlichen Symptome bis zum Eintritt des Todes vergehen in der Regel nur wenige Minuten, doch kann, wenn das

Thier durchkommt, was sehr selten¹⁾), Dyspnoe und Parese der Extremitäten auch stundenlang andauern. Die Zeit, die bis zum Eintritt des Todes verfließt, dauert anscheinend länger, wenn das Thier am Umfallen und den sich anschliessenden Muskelactionen mechanisch behindert ist.

Der Grund für die Beschleunigung des Todes durch Muskelaction liegt wohl in der vermehrten Bildung der Kohlensäure bei den Muskelcontractionen, welche sich im Blut anhäuft. Fast regelmässig beobachtet man unwillkürliche Harnentleerung, keinen Speichelfluss.

Das Herz schlägt noch einige Zeit nach dem Tode fort; leitet man im Moment des Respirationsstillstandes künstliche Respiration ein, so lässt sich die Blutcirculation stundenlang in Gang halten.

Die Aehnlichkeit der Vergiftung mit der Curarevergiftung ist unverkennbar. Das Curare, resp. die unter dem Einfluss desselben eintretende Respirationshemmung und Kohlensäureanhäufung soll allerdings Warmblüter tödten, ohne dass es zu Erstickungskrämpfen kommt, indessen treten bei dem mir zu Gebot stehenden Curare stets leichte Zuckungen ein: es ist übrigens auch nicht abzusehen, warum die CO_2 -Anhäufung nicht schon in einem Moment tödtlich wirken soll, in welchem die Nervenendigungen in den Muskeln noch schwach erregbar sind. Schiebt man den Tod des Thieres durch künstliche Respiration hinaus, so bewirkt die Unterbrechung der Athmung auch beim Muschelgift keine Krämpfe.

Es ist selbstverständlich, dass ein endgültiges Urtheil über die Wirkung des Giftes damit nicht abgegeben sein soll, ich will nur betonen, dass das Bild der Vergiftung der Curarevergiftung sehr ähnlich ist, dass die Vergiftung die motorische Sphäre betrifft und der Tod wahrscheinlich durch Kohlensäureanhäufung erfolgt, eine primäre Herzwirkung nicht vorhanden ist. Ob eine vollkommene Identität besteht resp. welche Unterschiede — das zu entscheiden muss weiteren Untersuchungen überlassen bleiben. — Ferner ist es fast überflüssig zu bemerken, dass eine Uebersetzung der Beobachtungen auf den Menschen nicht ohne Weiteres

¹⁾ Bei Anwendung wässriger Abkochungen sieht man öfters schwere Symptome ohne tödtlichen Ausgang.

zulässig ist: Die Angriffspunkte toxischer Substanzen sind bekanntlich beim Menschen oft andere, als selbst bei Warmblütern, ganz zu schweigen von Kaltblütern. So wirkt das Phenol beim Menschen zuerst auf das Grosshirn, dann auf die Medulla oblong., Bewusstlosigkeit, Lähmung und stertoröses Athmen erzeugend, während es bei Thieren stets heftige klonische Krämpfe hervorruft.

Weiterhin sei noch eines eigenthümlichen Unterschiedes der giftigen Muscheln von den ungiftigen gedacht. Herrn Geheimrath Virchow war es bereits aufgefallen, dass die giftigen Muscheln dem Alkohol, in den sie gelegt waren, eine weit stärkere goldgelbe Farbe ertheilten, wie die ungiftigen. Auch bei genauem Einhalten gleicher Verhältnisse zwischen Muschelsubstanz (Weichtheile) und Alkohol bestätigte sich diese Beobachtung vollkommen: man konnte giftige und ungiftige alkoholische Lösungen an ihrer Färbung sehr gut unterscheiden und, mehr noch als hieran allein, an dem Verhalten dieser Lösungen zu Salpetersäure: im Reagensglas mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure erhitzt, erschienen die giftigen Lösungen grasgrün, die ungiftigen äusserst schwach gefärbt, fast farblos. Der Unterschied war noch deutlicher, wenn man zu den trübe gewordenen Lösungen soviel Alcohol absolutus hinzusetzte, dass sie sich wieder aufhellen. Selbstverständlich hat das Pigment an sich mit der toxischen Substanz nichts zu thun, aber es deutet auf den Ort hin, in welchem vermuthlich das Gift entsteht. Es liegt sehr nahe, dabei an die Leber zu denken, als dasjenige Organ, welches in hervorragendem Grade an der Bildung von Pigmenten, namentlich mit Salpetersäure reagirenden, theilhaftig ist. Inzwischen sind von anderer Seite, unabhängig von diesen Vermuthungen, Untersuchungen über das vorwiegend Gift produciende Organ der Muscheln ausgeführt worden, ich begnüge mich daher damit auf die angegebenen Unterschiede hingewiesen zu haben, deren Constanz natürlich noch zu erweisen bleibt.

Schliesslich tauchte naturgemäss die Frage auf, ob denn nicht etwa alle Miesmuscheln eine auf Frösche und Kaninchen toxisch wirkende Substanz enthalten? In dieser Beziehung ist es bemerkenswerth, dass Muscheln, die von der Insel Wangeroog, also von einer durchaus unverdächtigen Stelle stammten, sich

gleichfalls giftig erwiesen, wiewohl bedeutend schwächer. Auch von diesen wurden genau wie bisher, alkoholische Auszüge gemacht, von denen 8 ccm 1 g Muschelsubstanz (Weichtheile) entsprachen. Von den Auszügen wurden bestimmte Quantitäten genau abgemessen, verdampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, und ohne zu filtriren, den Thieren unter die Haut gespritzt. 10 und 5 ccm lähmten Frösche; 50 ccm tödteten ein Kaninchen von 1390 g Körpergewicht in wenigen Minuten, 10 ccm ein Kaninchen von 1175 g Körpergewicht in etwa 12 Minuten. Es reichte also das 8fache von der Dosis, welche von notorisch giftigen Muscheln erforderlich war, zur Tödtung aus. Dagegen befanden sich unter den übersendeten Muscheln auch nichtgiftige, wenigstens solche, von denen 50 ccm alkoholischer Auszug auf Kaninchen keine Wirkung hatte.

Immerhin verdient dieser Punkt eine genauere Untersuchung. Ergäbe sich bei fortgesetzten Untersuchungen, dass eine gewisse Giftigkeit eine weit verbreitete Erscheinung ist, so wäre damit für die Frage nach der Abstammung des Giftes ein ganz neuer Gesichtspunkt gewonnen. — Die Isolirungsversuche sollen wieder aufgenommen werden, sobald ein etwas grösseres Material zur Verfügung steht.

Nachschrift. Während des Druckes habe ich mich nochmals durch einen in grösserem Maassstabe mit der wässrigen Abkochung giftiger Muscheln ausgeführten Versuch überzeugt, dass beim Destilliren des Auszuges nach Alkalizusatz das Gift nicht in das Destillat übergeht und die rückständige Flüssigkeit unwirksam wird. Es waren dabei auf je 100 ccm 3 ccm concentrirte Lösung von kohlen-saurem Natron zugesetzt. Das Destillat enthielt keine primäre Aminbase, oder nur Spuren, dagegen anscheinend neben Ammoniak Trimethylamin.
