# ARCHIV DER PHARMACIE.

21. Band, 1. Heft.

## A. Originalmittheilungen.

### Ueber Andromedotoxin, den giftigen Bestandtheil der Andromeda Japonica Thunberg.

Von Prof. P. C. Plugge.

(Untersuchungen aus dem pharmaceut.-toxicologischen Laboratorium der Universität Gröningen.)

Die Andromeda Japonica Thunberg ist eine immergrüne Staude aus der Familie der Ericaceae, die in Japan allgemein auf Bergen vorkommt und auch ziemlich vielfältig in Garten als Ziergewächs gezogen wird.

Den Japanesen ist diese Pflanze schon längst als giftig bekannt; dennoch ist es mir, auf meine Bitte um nähere Auskunft in dieser Richtung, nicht gelungen, etwas zu erfahren, das besonders hervorgehoben zu werden verdiente. Die japanesischerseits mir gegebene Auskunft geht darauf hinaus, dass die Pflanze giftig ist für Menschen, Insecten, Kühe und namentlich für Pferde (daher denn auch, dass die Pflanze in Japan, ausser mit dem üblichern Namen Asebo, auch mit dem Namen Basuiboku (von Ba = Pferd, sui = betäubend und boku = Baum) bezeichnet wird.[1]

1) Die erwähnten Nachrichten, welche ich hier übersetzt folgen lasse, lauteten also: „Die Pflanze kommt als eine wild wachsende allgemein auf Bergen vor und wird auch in Gärten cultivirt. Die Höhe der Pflanze wechselt von 4 bis 10 Fuss; ihre Blätter sind immergrün. Bei dem Volke gilt die Pflanze allgemein als giftig. Es ist mir nicht bekannt, ob sie als Arznei (as a poisonous medicine) angewandt wird, doch sind Fälle bekannt, dass Kinder, welche irrthümlich von der Pflanze gegessen hatten, dadurch vergiftet worden sind.

Pferde und Kühe, welche von den Blättern gefressen hatten, scheinen betäubt und sterben, daher wird die Pflanze genannt: Basuiboku: a plant intoxicating horses. Ein Absud der Blätter wird auch vom Volke angewandt zur Vertilgung der Insecten."

Schon während meines Aufenthaltes in Japan (1876—1878) habe ich mich, auf die Bitte des Herrn Sensai Nagayo, des Chefs vom Sanitäts-Bureau in Tokio, mit der Untersuchung der Blätter beschäftigt und dabei die erhebliche Giftigkeit des wässerigen Auszuges durch Versuche auf Frösche und Kaninchen constatirt.

Indem meine damaligen vielfachen Beschäftigungen mich an der Beendigung dieser Untersuchung verhinderten, nahm ich bei meiner Abreise aus Japan (1878) eine Kiste mit getrockneten Pflanzen mit.

Mit der Untersuchung derselben habe ich mich seit dem Sept. 1881 abwechselnd beschäftigt: die Resultate jener Untersuchungen lasse ich hier folgen.

Um zunächst Anweisungen über die beste Abscheidungsmethode des giftigen Bestandtheils zu erhalten, wurden folgende vorläufige Experimente angestellt.

I. Aus 50 g. Holz und Blättern (etwa gleichen Quantitäten) der Andromeda Japonica wurde durch zweimaliges Ausziehen mit heissem Wasser ein Auszug bereitet, der nach Filtrirung verdunstet wurde zu einem Volum von 10 C. C. Jedes C. C. dieser Flüssigkeit entsprach also 5 g. Holz und Blättern.

Dieser rothbraune, sauer reagirende Auszug stellte sich bei Versuchen auf Thiere als sehr giftig heraus. 0,1 C. C. bei Fröschen (sowohl Rana esculenta wie Rana temporaria) subcutan injicirt, verursachte sehr charakteristische Vergiftungserscheinungen mit tödtlichem Ausgang. Durch 0,8 C. C. wurde eine Taube in 30 Minuten, durch die nämliche Quantität (0,8 C. C.) ein Kaninchen in 43 Minuten getödtet. Durch diese Versuche war also dargethan, dass der giftige Bestandtheil durch Wasser ausgezogen werden kann.

II. 6,5 C. C. des wässerigen Auszuges I, wurden vollständig präcipitirt mit einer Auflösung von neutralem Bleiacetat, das Präcipitat abfiltrirt, gut abgewaschen und danach aus Filtrat und Waschwasser das überflüssige Pb durch $H^2S$ entfernt. Die bleifreie Flüssigkeit wurde vorsichtig verdunstet, bis das Volumen wieder 6,5 C. C. betrug. Mit dieser gereinigten Flüssigkeit, die nur hellgelb gefärbt war, wurden jetzt toxicologische Versuche angestellt.

Sie erwies sich noch als sehr giftig und aus den Thatsachen, dass eine Taube durch eine Dosis Gift von 0,8 C. C. in 40 Minuten unter vollkommen gleichen Vergiftungserscheinungen starb, darf wohl gefolgert werden, dass die Reinigung mit neutralem Bleiacetat ohne

zu befürchtenden Verlust der giftigen Substanz angewandt werden kann.

Ein anderer Theil dieser gereinigten Flüssigkeit wurde dazu verwendet, zu constatiren, dass die Auflösung keine Alkaloïde enthielt. Durch Jod-Jodkalium, Jodwismuth-Jodkalium, Jodqueck-silberjodkalium, Gerbsäure u. a. allgemeine Alkaloïd-Reagentien wurde nicht die geringste Trübung oder Fällung verursacht.

III. Um einigermaassen annähernd den Giftigkeitsgrad des wässrigen Auszuges der Blätter (ohne Holz) zu bestimmen, wurden auf die sub I. erwähnte Weise aus 125 g. Blättern 15 C.C. Infus bereitet. 0,1 C.C. dieser Flüssigkeit (= 0,833 g. Blätter) tödtete ein Kaninchen von einem körperlichen Gewicht von 725 g. in 1 Stunde 17 Minuten.

Diese Flüssigkeit wurde weiter dazu benutzt, zu untersuchen, ob auch basisches Bleiacetat zur Reinigung der Flüssigkeit verwendet werden könnte, resp. zu untersuchen, ob der giftige Stoff, der nach II. nicht präcipitirt wurde durch neutrales Bleiacetat, sich auf die nämliche Weise verhält gegenüber dem basischen Acetat.

Dazu wurden 13 C.C. des Infuses nach vorheriger Verdünnung mit Wasser vollständig präcipitirt mit einer Auflösung von basischem Bleiacetat. Das sehr voluminöse Präcipitat wurde so gut wie möglich abgewaschen und aus Filtrat und Waschwasser das Blei mit $H^2S$ entfernt, um danach wieder bis auf 13 C.C. zu verdunsten.

Durch Versuche auf Frösche wurde ermittelt, dass auch die also gereinigte Flüssigkeit sehr heftig giftige Wirkung besitzt, und deshalb der giftige Stoff auch durch basisches Bleiacetat nicht oder doch sehr unerheblich gefällt wird.

IV. Um zu ermitteln, ob die durch die genannten Bleisalze gebildeten Präcipitate auch andere giftige Substanzen enthalten, habe ich später aus einer grösseren Quantität Flüssigkeit erst ein Präcipitat (a) durch neutrales — und danach aus dem Filtrate ein zweites Präcipitat (b) durch basisches Bleiacetat abgesondert. Jene Präcipitate wurden möglichst rein mit destillirtem Wasser vertheilt, durch $H^2S$ zersetzt, die Flüssigkeit abfiltrirt, durch Verdunstung von $H^2S$ gereinigt und zu einem kleinen Volum reducirt.

Mit jenen beiden Flüssigkeiten auf Frösche angestellte Versuche zeigten, dass beide, freilich schwache, doch deutliche Vergiftungserscheinungen hervorriefen.

Der Umstand aber, dass jene Erscheinungen qualitativ völlig übereinstimmten mit denjenigen, welche durch die gereinigte Flüssigkeit verursacht worden, wohinzu die bekannte Schwierigkeit kommt, die durch Bleiacetat erhaltenen Präcipitate aus Pflanzeninfusen gut auszuwaschen, so wie auch die quantitative beziehungsweise geringe Wirkung der in Rede stehenden Flüssigkeit beweist wohl, dass keine andere erheblich giftigen Bestandtheile in jenen Präcipitaten vorhanden waren und dass die geringe giftige Wirkung auf ungenügender Abwaschung und Entfernung des auflöslichen Giftes zurückzuführen sei.

Durch dieses Experiment wird also das sub II. und III. erwähnte Resultat noch bestätigt.

V. Um auszumitteln, ob die giftige Substanz auch durch Alkohol aus der Pflanze aufgenommen wird, bereitete ich aus 50 g. Holz und Blättern, durch zweimaliges Ausziehen mit Alkohol von 90 % in der Wärme und Ausdunstung der filtrirten Flüssigkeiten ein alkoholisches Extract. Dieses Extract wurde dreimal ausgezogen mit Wasser und diese vereinigten wässerigen Auszüge, nach Filtrirung, bis 10 C. C. Flüssigkeit eingeengt.

Durch Versuche auf Frösche wurde dargethan, dass diese sauer reagirende Flüssigkeit, die nur lichtgelbbraun gefärbt war, wenigstens ebenso stark giftig wirkte wie die wässerige (sub I erwähnte) Flüssigkeit.

0,1 C. C. Flüssigkeit tödtete Frösche in derselben oder in etwas kürzerer Zeit unter vollkommen gleichen Vergiftungserscheinungen.

VI. Durch den Versuch in einem Dialysator von Pergamentpapier wurde nachgewiesen, dass der giftige Stoff durchgelassen wird. Nach 10 Stunden zeigte die sich ausserhalb des Diffusionsbehälters befindliche Flüssigkeit deutlich giftige Wirkung.

VII. 100 g. Blätter wurden in einem Kolben während einiger Zeit mit Wasser digerirt und sodann wurde ein Theil der Flüssigkeit abdestillirt. Dieses Destillat, von besonders unangenehmem Geruch, welches durch $AgNO^3$, wie durch $HgCl^2$ trübe ward, war nicht giftig.

VIII. Um zu erforschen, ob die giftige Substanz, bei der Behandlung der Pflanze nach der Dragendorff'schen Methode zur Ermittelung der Gifte, auch durch irgend eine Flüssigkeit ausgeschüttelt werden könnte, verfuhr ich auf folgende Weise. Von 100 g. Holz und Blättern wurde durch zweimaliges Ausziehen mit Wasser und

Verdunstung jener Flüssigkeit ein dünner Syrup erhalten, dieser wurde gemischt mit 3 Vol. Alkohol von 90 %, filtrirt, der Alkohol durch Verdunstung entfernt und die abermals filtrirte, lichtbraune, saure Flüssigkeit auffolgend geschüttelt mit:

Petroleumäther, der nach Verdunstung kein giftiges Residuum zurückliess;

Benzol, lässt bei Verdunstung eine geringe Quantität giftigen Stoffes zurück.

Chloroform gab bei Verdunstung mehr Residuum als das Benzol. Die Ausschüttlung der sauren Flüssigkeit mit Chloroform wurde jetzt einigemale wiederholt, von den gesammelten Flüssigkeiten der grösste Theil des Chloroforms durch Destillation zurückgewonnen und die jetzt mehr concentrirte Auflösung zu einigen näheren Versuchen verwendet.

Der bei Verdunstung jener Auflösung in einem Uhrglase zurückbleibende Stoff war fast farblos, vollkommen durchsichtig, zäh und balsamartig. Es ergab sich, dass er in Wasser schwer, leichter aber in sehr verdünnter Natronauflösung aufgenommen wird, und diese bei einem Frosche injicirte Auflösung verursachte sehr heftige, doch qualitativ mit denen des Pflanzeninfuses I. übereinstimmende Vergiftungserscheinungen.

Mit andern Resten auf mehrere Uhrgläser verbreitet, wurde reagirt mit $H^2SO^4$, $H^3PO^4$, Fröhde's Reagens, der Mischung von $K^6Fe^2Cy^{12} + Fe^2Cl^6$ u. s w., die wir später ausführlicher besprechen.

Die saure Flüssigkeit, die nach einander mit Petroleumäther, Benzol und einigemale mit Chloroform geschüttelt war, wurde jetzt mit Ammon schwach alkalisch gemacht und dann von Neuem geschüttelt mit:

Petroleumäther, der bei Verdunstung nichts zurückliess;

Benzol, das ebenfalls nichts oder nur sehr unbedeutende Reste zurückliess;

Chloroform, das deutliche Reste bei Verdunstung gab, woraus also erhellt, dass diese Flüssigkeit den Stoff auch der alkalischen Auflösung entzieht;

Amylalkohol, der bei Verdunstung ein ziemlich stark gefärbtes Residuum zurückliess, deshalb auch andere Stoffe aus der Auflösung aufnimmt und daher schon weniger Empfehlung als Ausschüttelungsflüssigkeit verdient.

Diese Untersuchung hat also gelehrt, dass der giftige Stoff, den wir weiter mit dem Namen Andromedotoxin bezeichnen werden, sowohl aus alkalischer wie aus saurer Auflösung durch Chloroform aufgenommen wird. Die Abscheidung aus der sauren Flüssigkeit schien, auch bei späteren Versuchen, den Vorzug zu verdienen. Dabei wurde zugleich noch dargethan, dass auch der Aether nicht als Ausschüttelungsflüssigkeit angewendet werden kann, indem er das Andromedotoxin nur in geringer Quantität der Auflösung entzieht.

IX. Bei einer späteren, derartigen Ausschüttelung eines mit verdünnter Schwefelsäure sauer gemachten Pflanzeninfuses, auffolgend mit Petroleumäther, Benzol, Chloroform, Aether und Amylalkohol beobachtete ich die Abscheidung eines flockigen Stoffes, der also durch Säuren abgeschieden wurde, ohne in eine der erwähnten Ausschüttelungsflüssigkeiten aufgenommen zu werden.

Dieser Stoff wurde abfiltrirt, mit saurem Wasser abgewaschen und danach aufgenommen in verdünnter Natronlauge, welche den Stoff mit einer sehr intensiv rothen Farbe vollkommen klar auflöste, um daraus durch Säuren (HCl, $H^2SO^4$) unter Entfärbung der Flüssigkeit wieder abgeschieden zu werden. Nach wiederholtem Auflösen und Präcipitiren ist dieser Stoff licht roth, nach Trocknung harzig, dunkelroth, beinahe schwarz, sehr wenig oder nicht auflöslich in Wasser und verdünnten Säuren, doch leicht und mit einer schönen rothen Farbe auflöslich in Alkalien. Versuche mit diesem in sehr verdünnter Natronauflösung aufgelösten Stoffe auf Frösche und Kaninchen bewiesen, dass er giftfrei ist.

Eine durch Digeriren des Stoffes mit äusserst verdünnter Natronauflösung erhaltene Auflösung zeigte die folgenden Eigenschaften:

$AgNO^3$ gab ein flockiges Präcipitat.

$HgCl^2$ entfärbte die Flüssigkeit und machte sie schwach trübe, präcipitirte sie aber nicht.

$AuCl^3$ gab ein gelbliches Präcipitat.

Neutrales und basisches Bleiacetat verursachten flockige rothe Präcipitate.

$Fe^2Cl^6$ färbte die Auflösung grün, doch präcipitirte sie nicht.

$CuSO^4$ verursachte ein Präcipitat.

Aus der Mischung von $K^6Fe^2Cy^{12} + Fe^2cl^6$ wurde unmittelbar ein reichliches, blaues Präcipitat abgeschieden.

Dieser toxicologisch unwirksame Stoff, den wir bequemlichkeitshalber Andromedorubin nennen wollen, ohne damit darthun zu wollen, dass wir es für ausgemacht halten, dass er nur ein chemisch reiner Stoff ist, ist sehr wahrscheinlich auch die Ursache von der rothen Farbe des Pflanzeninfuses, namentlich von dem schwachen alkalischen Wasser.

Wiewohl ich eine kleine Quantität dieses Stoffes gesammelt hatte, habe ich ihn später, da er die giftige Wirkung der Pflanze nicht beinflusst, nicht mehr eingehend untersucht. Vielleicht bietet sich mir später noch dazu die Gelegenheit.

---

## Bereitung des Andromedotoxins.

Nachdem ich durch die beschriebenen vorläufigen Versuche einige nähere Anweisungen über die Eigenschaften des giftigen Stoffes gesammelt hatte, habe ich mehrere Bereitungsmethoden versucht z. B.:

1) Grobes Pulver von trocknen Blättern wird in einem gläsernen Deplacirgefässe eine geraume Zeit mit Petroleumäther ausgezogen zur Reinigung von Fett, Wachs, Chlorophyll u. s. w. Danach wird es in demselben Gefässe dreimal, jedesmal mit einer reichlichen Quantität Chloroform, während 24 Stunden ausgezogen.

Die gesammelten Chloroformauszüge werden abdestillirt und lassen alsdann eine zähe, fettige, grüngefärbte Masse zurück, woraus das Andromedotoxin durch verdünnte Natronauflösung ausgezogen wird. Aus der Auflösung wird alsdann, nach Ansäuerung, die giftige Substanz durch Schüttelung mit Chloroform in diese Flüssigkeit aufgenommen, aus der sie nach Verdunstung des Chloroforms ziemlich rein und farblos zurückbleibt. Es ergab sich aber, dass in dieser Weise nicht Alles ausgezogen wird, denn durch zweimaliges Auskochen der extrahirten Blätter mit Wasser erhielt ich noch eine Flüssigkeit, die nach Fällung mit neutralem und basischem Bleiacetat, Abscheidung von überflüssigem Blei durch $H^2S$ und Verdunstung des Filtrats zu einem kleinen Volum, bei Schüttelung mit Chloroform von Neuem einen Theil Andromedotoxin lieferte. Da sich überdies bei dieser Methode viel Petroleumäther und Chloroform verliert, ist sie nicht empfehlenswerth.

2) Das grobe Pulver von Holz oder Blättern wird dreimal mit Alkohol von 90 % in der Wärme digerirt, von den vereinigten Aus-

zügen der grösste Theil des Alkohols durch Destillation zurückgewonnen und danach die concentrirte Flüssigkeit in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade zu einem trocknen Extracte verdunstet. Das Holzextract ist ein braunes Pulver, das Extract der Blätter eine grünschwarze, harzige Masse. Aus jenen alkoholischen Extracten wird nun durch wiederholtes Ausziehen mit Wasser und Verdunstung der filtrirten Flüssigkeiten ein wässriges Extract bereitet, dass schliesslich wieder in eine geringe Quantität sehr verdünnten Alkohols aufgelöst wird. Bei Mischung der letztgenannten Flüssigkeit mit einer reichlichen Quantität Chloroform wird eine schwarzbraune, syrupartige Flüssigkeit an der Oberfläche des Chloroforms abgeschieden, während diese letzte Flüssigkeit beinahe farblos ist. Nach Absonderung des Chloroforms wurde die schwarze, syrupartige Flüssigkeit noch einigemale, jedesmal mit neuen Quantitäten Chloroform ausgeschüttelt. Durch Abdestilliren des Chloroforms blieb ein noch gelb gefärbtes Andromedotoxin zurück, das durch abermalige Auflösung in wenig verdünntem Alkohol und Abscheidung mit vielem Chloroform reiner, fast farblos erhalten ward.

Auch diese Methode genügte mir nicht in jeder Hinsicht. Sie liefert selbst nach zweimaliger Abscheidung ein noch nicht ganz farbloses Andromedotoxin, und weiteres Auskochen mit Wasser u. s. w. erwies, dass die Blätter nach dreimaliger Behandlung mit Alkohol in der Wärme diesem Auflösungsmittel noch nicht alles Gift abgegeben haben.

Indem diese Bereitungsweise vereinzelt auf das Holz und auf die Blätter angewandt wurde, setzt mich dieser Theil der Untersuchung noch in den Stand mitzutheilen, dass die nämliche giftige Substanz in beiden sich vorfindet, im Holz aber in viel geringerer Quantität als in den Blättern.

3) Durch wiederholtes (4 — 6 Mal) Ausziehen mit Wasser im siedenden Wasserbade wird aus den gequetschten Blättern ein Infus bereitet. Nachdem diese vereinigten Flüssigkeiten durch Verdunstung auf dem Wasserbade zu einem geringeren Volum concentrirt und abgekühlt sind, werden sie nach einander mit neutralem und basischem Bleiacetat vollständig gefällt.

Aus den vollkommen farblosen Filtraten wird das Blei durch $H^2S$ oder $Na^2SO^4$ abgeschieden und das bleifreie Filtrat vorsichtig zu einem kleinen Volum eingeengt.

Um dabei soviel wie möglich der Zersetzung und Färbung durch Einfluss der Wärme und Luft vorzubeugen, wurde diese Eindunstung von mir unter sehr geringem Druck ausgeführt. Ausgezeichnete Dienste erwies mir hierbei die Wasserstrahl-Pumpe von Arzberger-Zulkowky, in Verbindung mit unserer Wasserleitung, wodurch es mir leicht möglich war, die Flüssigkeit in der Retorte bei 50°C. in lebhaftem Kochen zu erhalten.

Die eingedunstete saure Flüssigkeit ist denn auch noch fast farblos geblieben; durch wiederholte Ausschüttelung in einem Scheidetrichter mit Chloroform und Entfernung des Chloroforms durch Destillation erhält man dann auch ein Andromedotoxin, das in dünnen Schichten farblos, in dicken Schichten nur schwach gelb gefärbt, doch vollkommen durchsichtig ist. Erst nach langem Stehen im Exsiccator über $H^2SO^4$ erhärtet dieser Stoff und kann alsdann in glasglänzenden, fast vollkommen farblosen und ganz durchsichtigen Schüppchen erhalten werden.

(Als ich bei einer derartigen Bereitungsweise das überschüssige Blei durch $Na^2SO^4$ entfernt hatte, erhielt ich nach Verdunstung der Flüssigkeit im Vacuum und Abkühlung, die Abscheidung einer grossen Anzahl schöner, weisser Krystallnadeln. Einen Augenblick war ich der Meinung, dass ein krystallinischer Pflanzenstoff anwesend wäre; eine nähere Untersuchung lehrte mich aber bald, dass jene Krystalle nur aus Calciumsulfat bestanden. Ich führe diese Thatsache hier bloss an als Beweis für den grossen Kalkgehalt der Andromeda-Blätter.)

Wenn diese dritte Bereitungsmethode meines Erachtens wohl die meiste Empfehlung verdienen dürfte, muss doch bemerkt werden, dass auch sie lästig und zeitraubend ist, und nicht leicht alles in der Pflanze befindliche Andromedotoxin liefert. Durch einen besonderen Versuch habe ich mich davon überzeugt, wie schwer die Ausziehung der letzten Spuren fällt.

100 g. Blätter werden in einem Kölbchen jedesmal mit so vielem Wasser, dass die Blätter gut durch die Flüssigkeit bedeckt waren, während 2 bis 3 Stunden im siedenden Wasserbade infundirt, danach noch einige Stunden kalt stehen gelassen und dann die Flüssigkeit so vollständig wie möglich durch Ablaufen entfernt. Die ersten Auszüge konnte ich ohne nähere Untersuchung wohl für giftig erklären, doch der 5., 6., 7., 8. und 9. Auszug wurde jedesmal bis auf etwa 0,5 — 1 C.C. eingedunstet, und diese kleine Quantität

Flüssigkeit, nach Abkühlung, einem Frosche injicirt. Die Reste des 5., 6. und 7. Auszuges verursachten alle letale Vergiftung; die vom 8. und 9. Auszuge gaben wohl die charakteristischen Vergiftungserscheinungen des Andromedotoxins, allein, wiewohl selbst nach zwei Tagen die Respiration sich noch nicht wiederhergestellt hatte und auch die Lähmungserscheinungen noch bestanden, diese Thiere erholten sich, das Athmen stellte sich am dritten Tage wieder ein und das Thier nahm wieder die gewöhnliche sitzende Haltung an.

Daraus erhellt also, dass sogar 9 nach einander folgende Ausziehungen mit heissem Wasser noch nicht genügen, die letzten Spuren des Andromedotoxins aus den Blättern auszuziehen. Die ermittelte grössere Auflösbarkeit des Andromedotoxins in verdünnten Alkalien berücksichtigend, habe ich daher später diese dritte Bereitungsmethode noch dahin geändert, dass nur bei der 1. und 2. Ausziehung reines Wasser, bei der dritten aber ein durch NaOH schwach alkalisch gemachtes Wasser benutzt wurde. Man erhält alsdann zwar stärker gefärbte Flüssigkeiten, allein das Andromedotoxin erleidet dabei keine Veränderung, wenigstens der durch Chloroform abgeschiedene Stoff war in gar keiner Hinsicht verschieden von dem vermittelst Ausziehung mit reinem Wasser erhaltenen. Die höhere Farbe des Infuses findet denn auch ihre Erklärung in der Erscheinung, dass der oben (IX) von uns mit dem Namen Andromedorubin bezeichnete Stoff durch Alkalien mit einer dunkelrothen Farbe aufgelöst wird.

Erweist es sich also, dass der Stoff (das Andromedotoxin) schwierig zur vollkommnen Auflösung gelangt, so ist es ebenso wenig leicht, ihn aus der wässerigen Auflösung vollkommen abzuscheiden durch Schüttelung mit Chloroform.

Nach wiederholter (8 — 10mal) Ausschüttelung mit Chloroform, ist die wässerige Flüssigkeit, nachdem man daraus durch Erwärmung das aufgelöste Chloroform ausgetrieben hat, noch immer giftig, und die physiologische Wirkung jener Flüssigkeit — zum Beweise dafür, dass sie noch immer denselben Stoff enthält, als schon ausgeschüttelt wurde — ist in gar keiner Hinsicht verschieden, von der durch Ausziehung der Blätter mit Wasser erhaltenen. Es stellt sich also heraus, dass auch die Ausschüttelung, was freilich für diesen, in Wasser nicht so gar schwer auflöslichen Stoff wohl a priori zu vermuthen war, viel Zeit und Material erfordert. Dennoch wird man schwerlich eine andere Ausschüttelungsflüssigkeit wählen kön-

nen, da schon aus meinen vorläufigen Versuchen erhellte, dass Petroleumäther, Benzol, Amylalkohol und Aether unberücksichtigt bleiben müssen.

Indem weiter das Andromedotoxin auch nicht aus der Auflösung in Wasser gefällt werden kann, muss diese dritte Bereitungsmethode also wohl für die beste gehalten werden.

## Eigenschaften des Andromedotoxins.

Dass das Andromedotoxin nicht als eine Mischung, sondern als ein reiner Stoff, und weiter auch als die einzige giftige Substanz der Andromeda Japonica betrachtet werden kann, meine ich aus der Thatsache schliessen zu können, dass:

1) Die Auszüge der Blätter mit verschiedenartigen Flüssigkeiten und die Reste der aufeinander folgenden Ausschüttelungen mit Chloroform, eine unter einander und der des als Andromedotoxin bezeichneten Körpers vollkommen gleiche physiologische Wirkung zeigen;

2) es nicht möglich ist, durch theilweise Auflösung aus dem Andromedotoxin Stoffe abzuscheiden, die in irgend welcher Hinsicht, durch chemische Reaction oder physiologische Wirkung verschieden sind.

Das Andromedotoxin ist in dem meist gereinigten Zustande, indem ich es erhielt, ein amorpher, in dünnen Schichten farbloser (in dicken Schichten nur lichtgelber), vollkommen durchsichtiger Stoff, der im feuchten Zustande hart, harzig und zerbrechlich ist. Er kann alsdann in glasglänzenden, durchsichtigen Schüppchen erhalten werden, die stark am Glase festkleben und durch eine geringe Quantität Flüssigkeit sich wieder leicht zusammenballen.

Bei der Erwärmung jener harzigen Schüppchen sah ich bei 80° bis 90° C. Bläschen in der klaren Masse entstehen, wahrscheinlich durch noch entweichenden Wasserdunst, zugleich verbreitete der Stoff dabei einen eingermaassen betäubenden Geruch. Bei weiterer Erhitzung zwischen 110° und 120° schmolz die Masse und liess nach Abkühlung ein noch farbloses, hartes, durchsichtiges Häutchen zurück. Bei höherer Temperatur findet Verkohlung und vollkommene Verbrennung statt.

Durch Erhitzung mit Natronkalk, sowie durch das Experiment von Lassaigne wurde die Abwesenheit von N dargethan. Zu einer

Bestimmung des Gehaltes C, H und O durch Elementar-Analyse besass ich zu wenig Material, dieselbe sofort auszuführen.

Uebergiest man das trockne Andromedotoxin mit einem Tröpfchen heissen Wassers, so wird es wieder bald zäh und balsamartig, drückt man auf diese zähe Masse einen blauen Lackmuspapierschnitzel, so erhält man schwache, doch deutliche Rothfärbung. Der Stoff reagirt also schwach sauer.

Bezüglich der Auflöslichkeit in verschiedenen Flüssigkeiten fand ich Folgendes:

Kaltes Wasser, geringe Auflöslichkeit, doch dazu hinreichend mit einigen Tropfen die charakteristischen Vergiftungserscheinungen bei Fröschen hervorzurufen und die chemischen Reactionen mit $H^2SO^4$, $H^3PO^4$, $HNO^3 + H^3N$ u. s. w. darzuthun.

Heisses Wasser löst es leichter auf, doch bei Abkühlung scheidet sich wieder ein Theil des Stoffes in zähen, kleberigen Flöckchen ab.

Alkohol, Amylalkohol, Chloroform, Eisessig und verdünnte Alkalien lösen den Stoff leicht auf; die Lösung in Eisessig wird durch Hinzufügung von etwas Wasser milchig trübe. Die Auflösung in verdünnten Alkalien wird durch Säuren trübe unter Abscheidung des Andromedotoxins.

Benzol, Terpenthinöl und Glycerin lösen es, namentlich in der Wärme ein wenig auf.

Absoluter Aether, Petroleumäther und Schwefelkohlenstoff lösen es nicht oder doch höchstens spurweise.

Die gesättigte wässerige Auflösung des Andromedotoxins wird nicht gefällt durch Gerbsäure, Jod-Jodkalium, Jodwismuth-Jodkalium, Jodquecksilber-Jodkalium und Phosphormolybdänsäure. Die letzterwähnte Flüssigkeit verursacht aber bei geringer Erwärmung blaue Färbung.

Die wässerige Auflösung wird eben so wenig präcipitirt durch die folgenden Metallsalze:

$Fe^2Cl^6$, $CuSO^4$, neutrales und basisches Bleiacetat, $HgCl^2$, $Hg^2(NO^3)^2$, $AuCl^3$, $PtCl^4$ und $AgNO^3$.

Erwärmt man die Auflösung des Andromedotoxins in verdünntem Ammon unter Hinzufügung eines Tropfen $AgNO^3$-Lösung auf einem Wasserbade, dann findet Schwarzfärbung statt. Erwärmt man die Auflösung in verdünnter Natronlauge mit alkalischer Kupferlösung, so bemerkt man eine geringe Abscheidung von rothem

$Cu^2O$. Nachdem ich vorher einen Theil Andromedotoxin mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt oder sogar gekocht, es darauf schwach alkalisch gemacht und endlich mit Fehling's Flüssigkeit gekocht hatte, sah ich keine merklich starke Reduction eintreten.

Durch Kochen der wässerigen Auflösung mit molybdänsaurem Ammoniak und HCl wird die Flüssigkeit stark blau gefärbt.

Uebergiesst man die feste, durch eine Spur Wasser geweichte Masse — z. B. den kleinen Rest, der nach der Verdunstung einiger Tropfen Chloroform-Auflösung auf dem Uhrglase zurückbleibt — mit der braunen Mischung von $K^6Fe^2Cy^{12} + Fe^2Cl^6$-Lösung, dann färbt sich der Rest unmittelbar blau und allmählich wird die ganze Flüssigkeit — bei Auflösung des Andromedotoxins — blau und präcipitirt.

Bei Kochen mit Wismuthnitrat und $Na^2CO^3$ konnte ich keine Schwarzfärbung bemerken.

Als charakteristische Farb-Reactionen auf Andromedotoxin können folgende dienen:

$H^2SO^4$. Uebergiesst man den trocknen Stoff (Rest aus der Chloroform-Auflösung, nach Verdunstung) mit concentrirter $H^2SO^4$, dann löst er sich mit einer schön rothen bis rothbraunen Farbe auf, die sich auf einige Stunden unverändert erhält.

Durch Hinzufügung einer Spur $HNO^3$ wird diese rothe Auflösung nur heller gelbroth gefärbt.

HCl. Concentrirte HCl ruft anfänglich wenig Veränderung hervor, höchstens eine schwache Braunfärbung; lässt man es aber einige Minuten stehen, so tritt eine grün-blaue Farbe auf, die bei Erwärmung, namentlich an der Peripherie, in Violettroth übergeht.

$HNO^3$. Concentrirte $HNO^3$ löst den Stoff beinahe unverändert auf; verdunstet man diese Auflösung in einem Uhrglase auf dem Wasserbade bis zur Trockne, dann bleibt ein schwach gelb gefärbtes, kaum sichtbares Residuum. Stellt man nun dieses Uhrglas umgekehrt auf ein anderes, in dem sich ein paar Tropfen Ammon befinden, dann sieht man den Flecken allmählich goldgelb, curcumagelb und endlich dunkel braungelb werden.

$H^3PO^4$. Uebergiesst man den Stoff mit $H^3PO^4$ von 25 %, dann findet in der Kälte keine Veränderung statt, doch bei Erwärmung tritt eine prächtig rothviolette Farbe hervor, die, je nachdem die Säure durch Verdunstung sich mehr concentrirt, dunkler und zuletzt rothbraun wird. (In dieser Hinsicht kommt der Stoff mit Aconitin überein.)

Verdünnte $H^2SO^4$ und verdünnte HCl verursachen bei Erwärmung eine rothe Farbe. Die Reaction mit $H^3PO^4$, verdünnter $H^2SO^4$ und verdünnter HCl stellt sich auch ein, wenn man die wässerige Andromedotoxin-Auflösung damit kocht oder ein wenig eindunstet.

Fröhde's Reagens färbt den trocknen Stoff anfangs, ebenso wie concentrirte $H^2SO^4$, rothbraun, sehr bald aber tritt eine prächtig dunkelblaue Farbe an die Stelle.

Alle die genannten Reactionen mit $H^2SO^4$, HCl, $HNO^3 + H^3N$, $H^3PO^4$, verdünnter $H^2SO^4$ und verdünnter HCl sind ohne Zweifel dem reinen Stoffe eigen, dem reinen Andromedotoxin, indem diese Farben desto schöner und intensiver auftreten, als der Stoff sorgfältiger gereinigt ist.

Dasselbe nun wage ich nicht zu behaupten von den andern Farb-Reactionen, die alle auf Reduction beruhen, also von denen mit $AgNO^3 + H^3N$, Fehling's Flüssigkeit, molybdänsaurem Ammoniak + HCl, der Mischung von $K^6Fe^2Cy^{12} + Fe^2Cl^6$ und Fröhde's Reagens.

Hierbei tritt die Färbung und Abscheidung von $Cu^2O$, Berlinerblau u. s. w. um so stärker auf, als der Stoff weniger sorgfältig gereinigt ist.[1] Zweifellos ist es, dass in dem Pflanzeninfus Stoffe vorkommen, welche diese sich auf Reduction beziehenden Reactionen sehr stark hervorbringen. Ein sauer reagirendes Infus, das sehr oft mit Petroleumäther, Benzol, Aether und Chloroform ausgeschüttelt war, also wenig oder auch kein Andromedotoxin mehr enthielt, präcipitirte aus der Mischung von $K^6Fe^2Cy^{12} + Fe^2Cl^6$ direct Berlinerblau, und gab mit alkalischer Kupferlösung eine starke Abscheidung von $Cu^2O$. Es ist in solchen Fällen schwer zu entscheiden, ob die geringe Abscheidung von $Cu^2O$, sowie auch die andern auf Reduction beruhenden Reactionen einer hartnäckig anhängenden Unreinigkeit, oder vielmehr dem chemisch reinen Stoff zugeschrieben werden müssen.

Diese Frage ist von Belang, wo es gilt, die Eigenschaften des Andromedotoxins zu erwähnen. Für die Ermittelung aber, z. B. bei

---

1) Bei einem durch Reinigung farblos erhaltenen Rest von Andromedotoxin erhielt ich die Reaction mit $AgNO^3 + H^3N$ noch sehr stark, doch die mit Fehling's-Flüssigkeit nur sporadisch. Wahrscheinlich wäre also wohl die erste, doch nicht die zweite dem reinen Andromedotoxin eigen.

den gerichtlich chemischen Untersuchungen, sind diese Reactionen neben den anderen von grossem Werthe, indem sie, gesetzt, dass sie dem vollkommen reinen Stoffe nicht eigen sind, doch auftreten würden bei dem Stoffe, der sich abscheidet nach der bei der gerichtlich chemischen Untersuchung üblichen Methode.

---

Wiewohl ich über Ermittelung des Giftes in organischen Mischungen später noch besondere Versuche mittheilen werde, kann ich doch nun schon rücksichtlich der gefundenen Eigenschaften des Stoffes die folgende Methode empfehlen.

Die Stoffe, Inhalt des Magens, Speisebrei, u. s. w. werden einigemale nacheinander ausgezogen mit starkem Alkohol, die vereinigten, filtrirten Flüssigkeiten eingedunstet und der extractartige Rest einigemale ausgezogen mit nicht zu geringen Quantitäten Wasser. Diese wässerige Auszüge werden filtrirt, durch vorsichtiges Verdunsten concentrirt und alsdann, nach Abkühlung (wir setzen voraus, dass die Flüssigkeit schwach sauer ist) geschüttelt mit Petroleumäther, um etwaige Unreinigkeiten zu beseitigen, wonach man zu wiederholten Malen mit reichlichen Quantitäten Chloroform ausschüttelt, von dem man einen Theil durch Destillation zurückgewinnen kann.

Mit den Residuen der Chloroform-Auflösung, durch Verdunstung auf mehrere Uhrgläser gesammelt, nehme man folgende Reactionen vor: mit concentrirter $H^2SO^4$, concentr. HCl, $H^3PO^4$ von 25 %, $HNO^3 + H^3N$, Fröhde's Reagens, die Mischung von $K^6Fe^2Cy^{12} + Fe^2Cl^6$ und schliesslich eine physiologische Reaction auf einen Frosch.

Da ich bald anderswo Ausführlicheres über die toxicologische Wirkung des Andromedotoxins mitzutheilen hoffe, werde ich hier nur angeben, was bei dieser sogenannten physiologischen Reaction auf Frösche zu bemerken ist.

Wenn man das Residuum der Chloroform-Auflösung, das nicht mehr als 0,25—1,0 Mg. zu betragen braucht, in etwas Wasser oder noch besser in einige Tropfen sehr schwache NaOH-Auflösung aufnimmt und diese Auflösung subcutan injicirt, so bieten sich eine Anzahl wichtiger und sehr charakteristischer Vergiftungserscheinungen dar, die ziemlich constant auftreten und daher neben den chemischen Reactionen von sehr grossem Werthe sind für die Erkennung des Giftes. Die Erscheinungen sind folgende:

Ziemlich constant erhöhte Schleimabsonderung der Haut, namentlich in den Achseln bald sichtbar. Anfängliche Beschleunigung des Athmens, das bald darauf unregelmässig wird, vermindert und bald ganz aufhört (Adromedotoxin ist allerdings in erster Linie Respirationsgift). Hat das Athmen aufgehört, was bei nicht zu geringer Dosis zuweilen schon innerhalb 2—3 Minuten stattfindet, so zeigen sich fast immer starke brechförmige Bewegungen, mit weitem Oeffnen des Mundes und nicht selten mit Ausstülpung des Magens. Zuweilen bleibt das Thier nach solch einer brechförmigen Bewegung einige Zeit mit geöffnetem Munde ruhig und wie betäubt sitzen. Indem in diesem Momente die Empfindlichkeit noch sehr gross ist, braucht man das Thier nur eben anzurühren, um es zum Springen und zugleich zum Schliessen des Mundes zu bewegen. Nach und nach folgt dann aber Lähmung, die meistens zuerst am Vordertheile des Körpers sichtbar wird. Das Thier kann die gewöhnliche, sitzende Stellung auf den Vorderfüssen nicht mehr einhalten und lässt die Brust auf den Teller sinken. Reizung verursacht aber noch ziemlich starke Bewegung, einige springen sogar auf; nach einiger Zeit ist dieselbe aber unmöglich geworden und werden sogar nach starken Kneifen oder Stechen allein die Hinterfüsse noch krampfhaft ausgestreckt. Charakteristisch sind auch die während dieses Stadiums fast nimmer ermangelnden, sehr schönen fibrillären Zuckungen, die geraume Zeit fortbestehen und über den ganzen Körper, doch besonders an den Hinterfüssen prächtig wahrnehmbar sind.

Die Lähmung greift nun immer mehr um sich, sodass man das Thier auf den Rücken und in irgend welche willkürliche Stellung legen kann, ohne dass es sich bewegt. Beobachtet man während dieses Stadiums die Schwimmhaut unter dem Mikroskop, so sieht man, dass der Blutstrom noch sehr kräftig und schnell ist, dass deshalb das Herz noch nicht oder nur wenig gelitten hat. Schliesslich hören auch die fibrillären Zuckungen und danach die Blutbewegung auf (zuweilen erst nach sehr langer Zeit, was natürlich bedingt wird durch individuelle Unterschiede und Dosis), und das Thier stirbt.

Untersucht man alsdann ein Muskel-Nervpräparat des Frosches (Nervus ischiadicus mit Musculus gastrocnemius) im Myographion, mit einzelnen Inductionschlägen, dann sieht man, dass die Reizbarkeit des Muskels unverändert, gut geblieben ist, indem die Reizbarkeit des Nervs (intramusculäre, motorische Nervendungen) oft sehr vermindert, zuweilen auch ganz geschwunden ist.

Auch die bei warmblütigen Thieren auftretenden Erscheinungen, welche ich später beschreiben werde, dürften, wenn hinlänglicher Stoff geboten wäre, bei der Ermittelung des Andromedotoxins als physiologische Reactionen zu verwenden sein.

---

## Mittheilungen aus der Staatsapotheke in Bern.

## 1. Ueber gefärbte ätherische Oele.

Von Karl Hock.

Gelegentlich einer Untersuchung ätherischer Oele prüfte ich das Verhalten von Ol. chamomill., Ol. absinth. und Ol. millefol. im Spectralapparate und fand, dass dieselben sehr interessante Absorptionsverhältnisse zeigen. Sie geben drei Absorptionsstreifen im Roth und Orange und zwar bei den Fraunhofer'schen Linien B, C und C $^2/_3$ D.

Obwohl nun diese drei Oele ziemlich verschieden gefärbt erscheinen, so erblickt man bei der spektroskopischen Untersuchung die Streifen in ganz derselben Lage. Dies spricht dafür, dass dieselben einen Farbstoff gemeinsam enthalten. Destillirt man diese Oele, so erhält man anfangs farblose Producte, bei 150° jedoch gehen grünliche und blaugrüne Antheile und bei 260° und darüber intensiv blaue Destillate über. Diese letzteren zeigen auch die Streifen am deutlichsten, so dass also dem blauen Antheile die Absorptionen zuzuschreiben sind. Es lag nahe, die Untersuchung auch auf das blaue Oel, welches man bei der trocknen Destillation von Galbanum erhält, auszudehnen. Ueber Letzteres und über das blaue Oel der Matricaria chamomilla liegen interessante Mittheilungen von Mössmer[1] und Kachler[2] vor, welchen sich neuerdings hinsichtlich des blauen Oels aus Resina guajaci peruviana aromatica und eines blauen Productes aus Ol. valerianae Untersuchungen von A. Kopp[3] anschliessen.

Blaue Oele erhält man ferner, wie Flückiger[4] angiebt, bei der Destillation der Oele von Ferula Sumbul, Nectandra Puchury, Pogostemon Patschuly und Asa foetida.

1) Annal. d. Chem. u. Pharm. 119. 262.
2) Ber. d. d. chem. Ges. 1871. 36.
3) Arch. d. Pharm. 1876. 193.
4) Pharm. Chemie 309.