

Karl Heemsoth

Das 3-Monomethylxanthin, ein Mittel zur Bekämpfung der Mäuse und Ratten

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin

Referent: Professor Dr. Hinz

Berlin, den 14. IV. 1925

ISBN 978-3-662-27742-3 ISBN 978-3-662-29232-7 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-29232-7

Der wirtschaftliche Schaden, den die kleinen Nager durch Vertilgung und Beschmutzung von Lebensmitteln anrichten, ist ein sehr bedeutender. Nach *Parker*¹⁾ übersteigt der Schaden, der jährlich in England zu beklagen ist, die Summe von 15 Millionen Pfund Sterling. *Zuschlag*¹⁾ veranschlagt den Schaden, der durch Ratten angerichtet wird, in Dänemark auf jährlich 7 Millionen Kronen. Das biologische Institut der Vereinigten Staaten¹⁾ von Nordamerika hat festgestellt, daß der durch Ratten angerichtete Schaden dem Arbeitsertrag von 200 000 Menschen entspricht, da die Anzahl dieser Tiere auf etwa 100 Millionen geschätzt wird.

Die Angabe dieser Daten möge genügen, um die Größe der durch diese Schädlinge verursachten ungeheuren Schädigung des Volksvermögens darzutun.

Weiter spielen die Nager auch eine große Rolle bei der Verbreitung von Invasions- und Infektionskrankheiten. Die Ratte ist als Wirt der Trichine bekannt. Feststellungen über diese Häufigkeit des Vorkommens der Trichine bei Ratten sind veröffentlicht von *Heller*²⁾, *Leisering*²⁾, *Gerlach*²⁾, *Adam*²⁾, *Frank*²⁾ u. a. *Heller*²⁾ stellte fest, daß von 704 Ratten, die aus Orten in Sachsen, Bayern, Württemberg und Österreich stammten, 8,3% trichinös waren. Bei der Verbreitung von Infektionskrankheiten ist die Ratte besonders als Verschlepper der Pesterreger gefürchtet. Es ist meines Erachtens auch naheliegend, daß diese Schädlinge bei der Verbreitung der Fleischvergiftungen nicht unbeteiligt sind, indem sie von den mit Paratyphus verseuchten Abfällen diese Erreger auf Lebensmittel, besonders Fleisch, verschleppen.

Bei der Bedeutung der Ratten in wirtschaftlicher und hygienischer Beziehung mußte natürlich eine Bekämpfung der Plage einsetzen. Von den Mitteln, die in dem Vernichtungskrieg gegen die Nager in größte-

rem Umfang angewandt werden, spielen nun hauptsächlich 2 Gruppen eine Rolle; einmal die bakteriell wirkenden und dann die chemischen Mittel.

Die *bakterielle Methode* beruht darauf, unterihnen Seuchen hervorzurufen. Man verwendet in der Regel den Paratyphuserreger bzw. ihm nahestehende Bakterien. Diese Bakterien kommen aber in Abwässern und Dunggruben häufig vor. Die Ratten haben also Gelegenheit, sich gegen Paratyphus zu immunisieren. Daß dies in der Tat zutrifft, hat *Trautmann*¹⁾ dadurch bewiesen, daß er bei wilden Ratten starke Milzschwellungen, Zeichen überstandener Infektionskrankheiten, feststellte. Auch haben *Trautmann* und *Mezinesch*¹⁾ im Blutserum wilder Ratten Schutzstoffe gegen Paratyphus gefunden. Die Hersteller von Bakterienkulturen halten es deshalb auch zum Teil für erforderlich, einige Zeit nach dem Auslegen der Kulturen den Ratten noch mit einem zweiten Präparat, das pflanzliche oder chemische Gifte enthält, zu Leibe zu gehen, um die Tiere, die sich gegen die Bakterien als immun erwiesen haben, mit dem zweiten Mittel zu beseitigen, z. B. Ratin und Ratinin. Nur zu oft versagen die Bakterienpräparate auch aus einem anderen Grunde. *Neumark* und *Heck*³⁾ haben Versuche mit den verschiedensten Bakterienpräparaten angestellt und dabei gefunden, daß nur die wenigsten die deklarierten Bakterien in Reinkultur enthielten und daß auch diese sich bei Fütterungsversuchen als wirkungslos erwiesen. Sie kommen zu dem Schluß, daß die Anwendung sämtlicher von ihnen geprüften Bakterienpräparate zwecklos ist. Auch *Manteuffel*⁴⁾ sagt, daß die Hoffnungen, die man auf die bakteriologischen Rattenvertilgungsmittel gesetzt hat, sich nicht erfüllt haben, und daß man deshalb lieber chemische Mittel anwenden soll.

Neuerdings wird der Kampf gegen die Nagerplage von der Gesellschaft für Schädlingsbekämpfung in Frankfurt a. M. durch ein *Vergasungsverfahren (Blau-säure)* geführt. Dieses Mittel kann aber naturgemäß nur dort angewendet werden, wo eine vollkommene Isolierung des zu vergasenden Raumes erfolgen kann (Kühlhäuser, Mühlen usw.).

Von *anderen chemischen Mitteln* kommen als die wirksamsten die Arsen-, Phosphor- und Bariumpräparate in Betracht, zu denen in jüngster Zeit noch die unter dem Namen *Zelio* von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. in Leverkusen b. Köln a. Rh. herausgebrachten Thalliumpräparate hinzutreten¹⁾. Teilweise haben diese Gifte aber einen unangenehmen Geschmack oder Geruch, so daß die Köder, die mit ihnen behandelt sind, von den Tieren nicht genommen werden. Auch kann durch eine Verschleppung der Köder eine Vergiftung von Nahrungsmitteln, wie Fleisch, Getreide und Kartoffeln und weiter eine Schädigung der menschlichen Gesundheit erfolgen*).

Von einem allerorts brauchbaren Mittel zur Bekämpfung der Nagerplage muß erwartet werden, daß es neben der sicheren Wirkung und

*) Während der Drucklegung bekam ich Kenntnis von einem Sammelreferat von Dr. med. Gertrud Koehler (Hygien. Inst. d. Universität Freiburg i. Br.) „Die Ratten als Krankheitsüberträger“, erschienen im Zentralblatt für die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete. Bd. X, Heft 3, S. 161—199. Die Verf. führt die pflanzlichen und tierischen Parasiten auf, die auf natürlichen Wege spontan bei Ratten vorkommen und vom hygienischen und epidemiologischen Standpunkte aus von Interesse sind. Es werden die Rattenbekämpfungsmethoden angegeben und wegen der bedeutenden Gefahren und Schädigungen durch die Ratten gesetzliche Vorschriften zur Eindämmung der Rattenausbreitung und zur Bekämpfung der Ratten gefordert.

leichten und bequemen Anwendungsweise für Menschen und Haustiere ungefährlich ist.

Während des Weltkrieges wurde in dem Schlachthof in Barmen gegen die Ratten mit gutem Erfolge ein Präparat — *Sokial* — der Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co., Leverkusen b. Köln a. Rh. angewandt, das als wirksamen Bestandteil 3-Monomethylxanthin enthält. Ich wurde hierdurch veranlaßt, die Wirkung des 3-Monomethylxanthins bei den kleinen Nagern zu untersuchen. Die Leiter des pharmakologischen und bakteriologischen Laboratoriums der Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. in Elberfeld, Dr. *Impens* und Dr. *Wesenberg* gaben mir in liebenswürdigster Weise Gelegenheit, die Untersuchung in ihren Laboratorien auszuführen.

Das 3-Monomethylxanthin, synthetisch von *E. Fischer* dargestellt, ist ein weißes krystallinisches Pulver von leicht bitterem Geschmack. Unter dem Mikroskop erscheint es in Form von Prismen. Das 3-Methylxanthin löst sich in Wasser von gewöhnlicher Temperatur im Verhältnis von 1 : 3000. Es ist leicht löslich in alkalischen Laugen, mit welchen es Salze bildet. 1 g erfordert zur Lösung 6,0 ccm Normalnatronlauge. Aus diesen alkalischen Lösungen wird es selbst durch schwache Säuren, wie z. B. Kohlensäure, ausgefällt. Auch mit Ammoniak gibt es leicht lösliche salzartige Verbindungen.

Untersuchungen über die Wirkung des 3-Methylxanthins sind, soweit mir das Schrifttum bekannt geworden ist, von *Albanese*⁵⁾, *Ach*⁶⁾ sowie *Impens*⁷⁾ vorgenommen. Während *Albanese* und *Ach* für ihre Versuche Hunde und Kaninchen benutzten, dehnte *Impens* seine Versuche auch auf Fische, Frösche, Katzen und Tauben aus. Das Präparat wurde intravenös oder per os (*Ach* beim Kaninchen, *Impens* bei der Katze und bei der Taube) gegeben.

*Albanese*⁵⁾ beobachtete bei Kaninchen und Hunden das Auftreten von klonischen und tonischen Krämpfen bei intravenösen Dosen von 0,2 g beim Hund und von 0,35 g beim Kaninchen pro Kilogramm Körpergewicht. Die Atmung sistierte während der Krämpfe, das Herz schlug kräftig und regelmäßig weiter. *Albanese* stellte weiter eine starke diuretische Wirkung des 3-Methylxanthins fest. Bei einer intravenösen Gabe von 0,15—0,2 g vermehrte sich die Menge des ausgeschiedenen Harns um das 90—100fache. Bei größeren Dosen über 0,2 g für ein mittelgroßes Kaninchen hörte die Diurese auf. Die Veranlassung war eine Verstopfung der Harnkanälchen durch das Auskrystallisieren des 3-Methylxanthins.

Die letale Dosis bei intravenöser Applikation betrug beim Hund 0,3—0,4 g, beim Kaninchen 0,5 g pro Kilogramm Körpergewicht.

*Ach*⁶⁾ bestätigte die diuretische Wirkung des 3-Methylxanthins. Jedoch ist die Diurese nach ihm nicht so beträchtlich, wie *Albanese* sie bei gleichen Dosen beobachtet hat. Auch *Ach* sah bei Gaben über 0,2 g beim Kaninchen die Diurese aufhören.

*Impens*⁷⁾ gibt seine Versuche über die Wirkung des 3-Methylxanthins bei Fischen, Fröschen und Warmblütern (Katzen, Kaninchen, Tauben) bekannt. Bei der letzteren erstreckten sich seine Versuche auf die Giftigkeit des Präparates,

auf den Einfluß auf den Blutdruck und auf die diuretische Wirkung. U. a. gab *Impens* 2 Katzen im Gewicht von 1387 und 1340 g 0,2 bzw. 0,4 g 3-Methylxanthins, ohne irgendwelche Giftwirkung zu sehen.

Die obigen Autoren beobachteten also das Aufhören der Diurese durch Verstopfung der Harnkanälchen bei den von ihnen benutzten größeren Versuchstieren. Meine Untersuchungen erstreckten sich darauf, festzustellen, ob die Giftwirkung des 3-Methylxanthins, das von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. bereits als Mittel zur Schädlingbekämpfung mit Erfolg in den Handel gebracht ist, auf die Eigenschaft des 3-Methylxanthins, Störungen in der Funktion der Nieren hervorzurufen, zurückzuführen ist.

Meine Versuche wurden bei subcutaner, intravenöser und peroraler Applikation bei weißen Ratten und weißen Mäusen angestellt.

Versuch über die Giftigkeit bei subcutaner Anwendung.

Die Stammlösung bestand aus 1,0 g 3-Methylxanthin, für das im folgenden der Kürze halber die Handelsbezeichnung „Sokial“ angewandt werden soll, 6,0 ccm Normalnatronlauge ad 25 ccm Aqua dest.

Maus	im Gewicht von	erhielt	20 mg,	Tod nach	70 Minuten
1	12 g	12 g	15 mg,	„	20 Stunden
2	12 g	12 g	15 mg,	„	20 Stunden
3	17 $\frac{1}{2}$ g	17 $\frac{1}{2}$ g	10 mg,	„	26–34 „
4	17 $\frac{1}{2}$ g	17 $\frac{1}{2}$ g	5 mg,	„	41 „
5	17 $\frac{1}{2}$ g	17 $\frac{1}{2}$ g	5 mg,	„	36 „
6	12 g	12 g	3 mg,	„	24 „
7	11 g	11 g	1 $\frac{1}{2}$ mg,	„	24 „
8	19 g	19 g	1 $\frac{1}{2}$ mg,	„	36 „
9	19 g	19 g	1 mg,	„	trat nicht ein
10	18 g	18 g	$\frac{1}{2}$ mg,	„	„ „ „
11	15 g	15 g	$\frac{1}{4}$ mg,	„	„ „ „

Versuch über die Giftigkeit bei intravenöser Anwendung.

Das gelöste Präparat wurde den Mäusen in eine Schwanzvene injiziert.

Maus	im Gewicht von	erhielt	20 mg,	Tod sofort n. d. Applikation
12	17 g	17 g	20 mg,	„ „ „ „ „
13	16 g	16 g	15 mg,	„ „ „ „ „
14	18 g	18 g	10 mg,	„ nach 7 Stunden
15	20 g	20 g	10 mg,	„ „ 8 „
16	16 $\frac{1}{2}$ g	16 $\frac{1}{2}$ g	5 mg,	„ „ 2–3 Tagen
17	21 $\frac{1}{2}$ g	21 $\frac{1}{2}$ g	3 mg,	„ „ 24 „
18	11 g	11 g	1 $\frac{1}{2}$ mg,	„ „ 24 „
19	21 $\frac{1}{2}$ g	21 $\frac{1}{2}$ g	1 $\frac{1}{2}$ mg,	„ „ 24 „
20	23 g	23 g	1 mg,	„ trat nicht ein
21	20 mg	20 mg	$\frac{1}{2}$ mg,	„ trat nicht ein
22	19 g	19 g	$\frac{1}{2}$ mg,	„ trat nicht ein

Versuch über die Giftigkeit bei Applikation per os.

Bei den in der Tabelle unterstrichenen Versuchstieren wurde das Mittel in Lösung mittels Schlundsonde und Spritze in den Magen ein-

geführt, die übrigen Versuchstiere erhielten das Präparat mit Brot und Milch.

Maus	23	im Gewicht von 19 g	erhielt 200 mg,	Tod nach 2 Tagen
„	24	„ „ „ 21 g	„ 200 mg,	„ „ 2 „
„	25	„ „ „ 15 g	„ 100 mg,	„ „ 2 „
„	26	„ „ „ 17 g	„ 100 mg,	„ „ 2 „
„	27	„ „ „ 17 g	„ 75 mg,	„ „ 3 „
„	28	„ „ „ 17 g	„ 50 mg,	„ „ 2 „
„	29	„ „ „ 19 g	„ 50 mg,	„ „ 2 „
„	30	„ „ „ 20 g	„ 50 mg,	„ „ 15 Stunden
„	31	„ „ „ 18 g	„ 50 mg,	„ „ 12 „
„	32	„ „ „ 21 g	„ 20 mg,	„ „ 2 Tagen
„	33	„ „ „ 20 g	„ 20 mg,	„ „ 2 „
„	34	„ „ „ 20 g	„ 10 mg,	„ tritt nicht ein
„	35	„ „ „ 18 g	„ 10 mg,	„ „ „ „

Versuch über die Giftigkeit bei subcutaner Anwendung bei Ratten.

Ratte	1	im Gewicht von 240 g	erhielt 60 mg,	Tod nach 6 Tagen
„	2	„ „ „ 167 g	„ 30 mg,	„ „ 8 „
„	3	„ „ „ 153 g	„ 20 mg,	in schwer krankem Zustande nach 5 Tagen getötet.
„	4	„ „ „ 141 g	„ 15 mg,	Tod trat nicht ein
„	5	„ „ „ 175 g	„ 10 mg,	„ „ „ „
„	6	„ „ „ 110 g	„ 5 mg,	„ „ „ „

Ein Vergleich zwischen der intravenösen und subkutanen Applikationsweise bei *Mäusen* zeigt, daß das Sokial in beiden Versuchsreihen die gleiche Toxizität besitzt, also gleich gut resorbiert ist. Es ist anzunehmen, daß dies bei Ratten ebenso der Fall ist. Es wurde deshalb von der intravenösen Anwendungsweise, die im übrigen bei Ratten noch schwieriger wie bei den Mäusen auszuführen ist, abgesehen.

Versuch über die Giftigkeit bei Applikation per os bei Ratten.

Das Durchschnittsgewicht dieser Ratten betrug 120 g.

Ratte	7	erhielt 400 mg,	Tod nach 7 Tagen
„	8	„ 300 mg,	„ „ 4 „
„	9	„ 200 mg,	„ „ 3 „
„	10	„ 200 mg,	„ trat nicht ein
„	11	„ 200 mg,	„ nach 5 Tagen
„	12	„ 200 mg,	„ „ 5 „
„	13	„ 100 mg,	„ trat nicht ein
„	14	„ 100 mg,	„ „ „
„	15	„ 100 mg,	„ „ „
„	16	„ 75 mg,	„ „ „
„	17	„ 75 mg,	„ „ „

Die tödliche Dosis beträgt nach meinen Versuchen für Mäuse bei einem Durchschnittsgewicht von 17 g

bei intravenöser Darreichung	1½ mg,
bei subkutaner Darreichung	1½ mg,
bei peroraler Darreichung	20 mg;

für *Ratten*

bei subcutaner Darreichung 20—30 mg,
bei peroraler Darreichung 200 mg.

Der Tod trat bei den kleinsten letalen Dosen ein:

bei den *Mäusen*

bei subcutaner Applikation nach 24—36 Stunden,
bei intravenöser Applikation nach 24 Stunden,
bei Applikation per os nach 2 Tagen;

bei den *Ratten*

bei subcutaner Applikation nach 5—8 Tagen,
bei Verfütterung nach 3—5 Tagen.

Bei den nach Aufnahme des Sokials erkrankten Tieren zeigten sich folgende Symptome:

Sistierung der Futteraufnahme, Augenausfluß und Verklebung der Augenlider, vermehrte Atmung, erhöhte Reflexerregbarkeit, taumelnder Gang, Parese der Nachhand, Koma und Krampfstände.

Die Krankheitserscheinungen gleichen denen, die in der Veterinärmedizin (8 und 9) bei Tieren, die an Urämie erkrankt waren, beobachtet sind.

Bei der *Zerlegung der Versuchstiere* wurde eine *Schwellung beider Nieren* festgestellt. Bei einer getöteten gesunden Ratte im Gewicht von 162 g betrug das Gewicht der Nieren 0,7 g (linke Niere) bzw. 0,8 g (rechte Niere). Das Gewicht der Nieren bei einer 123 g schweren Ratte, die nach spontaner Aufnahme von Sokial gestorben war, dagegen 0,92 g (linke Niere) und 0,94 g (rechte Niere). Das Gewicht der Nieren einer weiteren 153 g schweren Ratte, die 20 mg subcutan erhalten hatte, und die in moribundem Zustande getötet wurde, sogar 1,27 g (linke Niere) und 1,20 g (rechte Niere). Vergleicht man das Gewicht der Nieren der 162 g schweren gesunden Ratte mit dem Gewicht der Nieren des getöteten 153 g schweren kranken Tieres, so ergibt sich der beträchtliche Gewichtsunterschied der Nieren im Verhältnis von etwa 3 : 5. Beide Tiere waren gleichmäßig gut ausgeblutet. Die Rindenschicht der Nieren zeigte sich verwaschen und trübe. Helle Gewebsstränge ziehen von der Markschiebt in die Rindenschicht hinein.

Die in der Medizin als pathognostisch angesehenen *diphtherischen Entzündungen des Dickdarms*, die durch Übertritt des im Blut angereicherten Harnstoffs durch Zersetzung in kohlen-saures Ammoniak hervorgerufen werden, waren *nicht* vorhanden.

Die von *Albanese*, *Ach* und *Impens* bei Hunden und Kaninchen beobachteten *Ablagerungen von Krystallen* konnte ich mikroskopisch auch in den *Harnkanälchen der Ratten und Mäuse* nachweisen.

Das *mikroskopische Bild der Nierenschnitte* gibt folgenden Befund (siehe d. Abb. 1, 2, 3 u. 4):

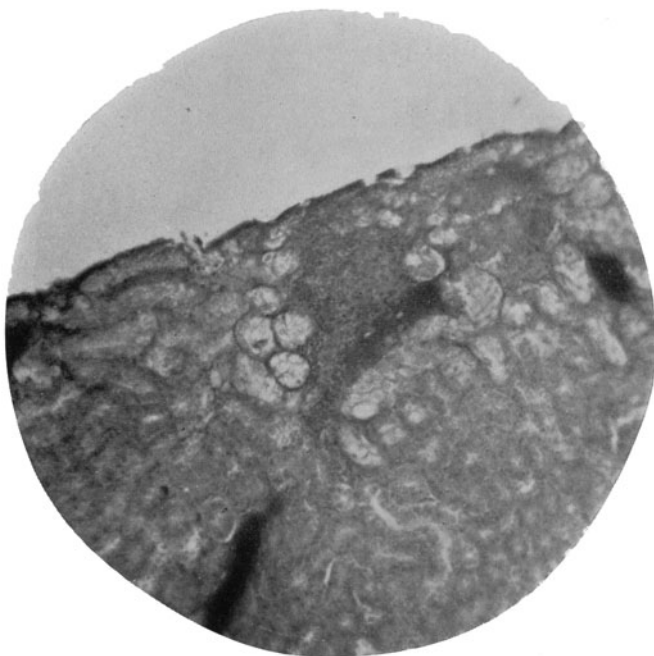


Abb. 1.

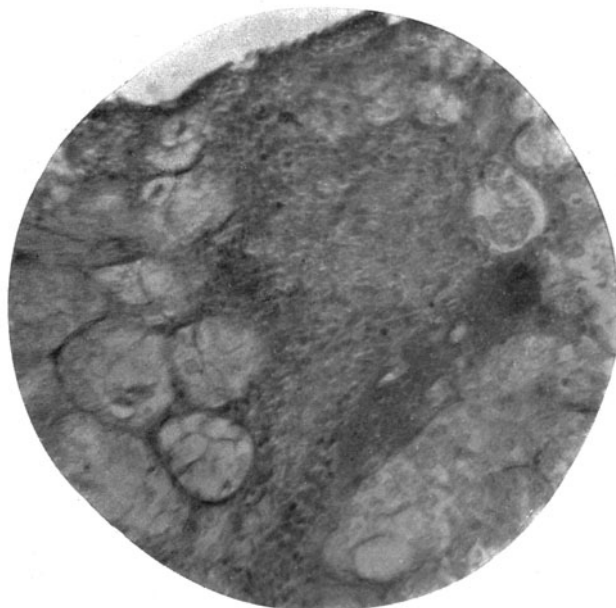


Abb. 2.

Das Epithel der gewundenen Kanälchen weist die Merkmale der trüben Entartung auf. Einige Epithelzellen in der Nähe der Rinden-

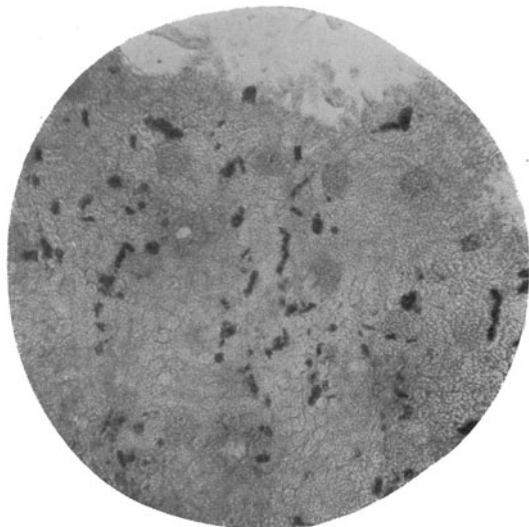


Abb. 3.

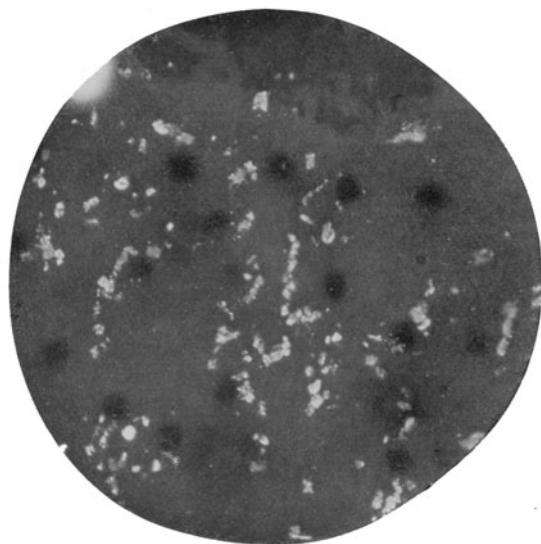


Abb. 4.

schicht sind sogar hydropisch entartet. Die Zellgrenzen sind in den meisten Fällen verwaschen. In einigen Kanälchen haben sich die Epithelzellen von der Basalmembran abgelöst und liegen im Lumen

der Kanälchen. *Im Lumen der Harnkanälchen befinden sich Krystallablagerungen.* Wenn man den mit dem Gefriermikrotom angefertigten Schnitt der Nieren unter dem Mikroskop bei polarisiertem Licht beobachtet, bemerkt man in den gewundenen Harnkanälchen Ablagerungen, welche bei paralleler Stellung der Nikolschen Prismen dunkel aussehen, bei gekreuzter Stellung der Nikols dagegen hell aufleuchten und alle Merkmale von Krystallgebilden zeigen. Außerdem sieht man viele Krystalle und auch Krystalldrusen, welche auf dem Gewebe liegen und wahrscheinlich bei der Anfertigung des Schnittes aus ihrer ursprünglichen Lage in den Harnkanälchen herausgerissen worden sind. Die Krystallablagerungen in den Tubuli contorti zeigen in vielen Fällen deutlich die gewundene Form der Kanäle, welche sie ausfüllen. Infiltrationen mit Leuckoyten treten nicht häufig auf. An einer Stelle der Rindenschicht wurde eine größere Infiltration beobachtet und zwar in der Nähe von Kanälchen, deren Zellen eine starke hydropische Entartung aufwiesen. Im allgemeinen zeigt das mikroskopische Bild die Merkmale einer toxischen Reizung der Nierenepithelien.

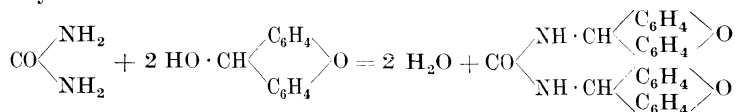
Die Symptome bei den kranken Tieren und die mikroskopisch festgestellte Verstopfung der Harnkanälchen durch Krystalle, die zweifellos den Harnabfluß behindert hatten, führten mich dazu, zu untersuchen, ob eine *Anhäufung von Harnstoff im Blut* stattgefunden hatte. Ich bediente mich zum Teil der von *R. Fosse, A. Robyn und F. François*¹⁰⁾ angegebenen Methode zur *quantitativen gewichtsanalytischen Bestimmung des Harnstoffs im Blut.*

Die Methode besteht in folgendem:

Das Blutserum wird durch das *Tanretsche*¹⁰⁾ Reagens:

Hydrargyrum bichloratum	2,71 g
Kalium jodatum	7,2 g
Acidum aceticum glaciale	66,6 ccm
Aqua	ad 100 ccm

gereinigt, d. h. von Eiweiß befreit und dann mit einer 10proz. methylalkoholischen Xanthydrollösung behandelt. Man bringt gleiche Teile Serum und Tanretsches Reagens in ein Zentrifugenröhrchen und zentrifugiert sehr energisch. Die klare Flüssigkeit wird abgehoben und mit der gleichen Menge Eisessig und dem 10. Teil Xanthydrollösung versetzt. Bei Anwesenheit von Harnstoff tritt nach kürzerer oder längerer Zeit, je nach der Menge des vorhandenen Harnstoffs, Trübung auf, und es kommt zur Bildung eines krystallinischen Niederschlages, bestehend aus Dixanthylharnstoff.



Während die Krystallnadeln, die durch Verdunsten aus der methylalkoholischen Xanthydrollösung entstehen können, in 50proz. Essigsäure sofort in Lösung gehen, sind die Dixanthylharnstoffkrystalle in dieser Säure unlöslich.

Während *Fosse* die Harnstoffbestimmung durch Gewichtsanalyse ausführt, versuchte ich, ob es durch die Bestimmung der Zeit, in der die erste Fällung auftritt, möglich ist, auf die Menge des Harnstoffs zu schließen.

Wie aus der folgenden Zusammenstellung hervorgeht, liegen die Fällungszeiten derart weit auseinander, daß daraus tatsächlich eine für unsere Zwecke genügende Schätzung der Harnstoffmengen möglich ist und die Ausführung der Gewichtsanalyse sich erübrigt, zumal diese bei den in Frage kommenden äußerst geringen Harnstoffmengen doch auch nur eine bedingte Zuverlässigkeit besitzt.

Im Vorversuch (I) wurde festgestellt, nach welcher Zeit in wässrigen Lösungen von Harnstoff sich der Niederschlag zeigte. Zu 1 ccm

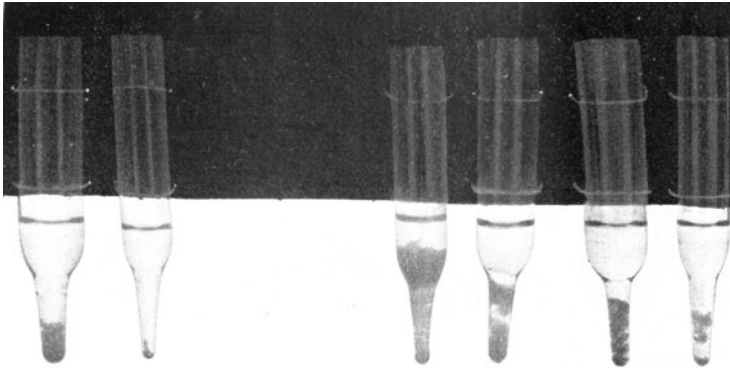


Abb. 5.

der verschiedenen konzentrierten Harnstofflösungen wurden 1 ccm Eisessig und 0,1 ccm Xanthydrollösung hinzugesetzt.

Ich kam zu folgendem Ergebnis:

Bei einer Verdünnung von		trat sofort	Trübung ein
1 : 1000	„	nach	$\frac{1}{2}$ Min. Trübung ein
1 : 5000	„	„	1 $\frac{1}{2}$ „ „ „
1 : 10 000	„	„	4 „ „ „
1 : 25 000	„	„	20 „ „ „
1 : 50 000	„	„	1 Std. „ „
1 : 100 000	„	„	4 „ „ „
1 : 250 000	„	„	5 „ „ „
1 : 500 000	„	„	6 „ „ „
1 : 1 Mill.	„	„	7 „ „ „
1 : 2 $\frac{1}{2}$ „	„	„	8 „ „ „
1 : 5	„	„	10 „ „ „
1 : 10	„	„	„ „ „

Versuch II. 0,1 ccm *Herzblutkoagulum* von der nach *Sokialfütterung* eingegangenen Ratte (Nr. 21) + 0,6 ccm Wasser bleiben etwa 5 Minuten unter Umschütteln zwecks Herauslaugung von Serumbestandteilen

stehen, dann werden 0,6 ccm Tanretisches Reagens hinzugesetzt und die Mischung wird zentrifugiert. Zu 0,8 ccm der klaren überstehenden Flüssigkeit kommen 0,8 ccm Eisessig. Die Hälfte dieser Mischung wird mit 0,1 ccm Xanthydrolösung versetzt. Nach 2 Minuten tritt Trübung auf und es kommt zur Bildung der charakteristischen Harnstoff-Xanthydrolkrystalle. Der Rest der Serum-Eisessigmischung (0,8 cm) wird mit 0,8 ccm 50 proz. Essigsäure versetzt und die Hälfte davon mit Xanthidrol geprüft. Nach 20 Minuten beginnende Trübung und Bildung von Krystallen. Die weitere Verdünnung bleibt kristallfrei. Es trat also Trübung auf in dem

- | | | | | | |
|----|--------|-----------------------------|------|----|---------|
| 1. | 1 : 12 | verdünnten Herzblutkoagulum | nach | 2 | Minuten |
| 2. | 1 : 25 | „ | „ | 20 | „ |
| 3. | 1 : 50 | „ | „ | 5 | Stunden |

Weitere Verdünnung blieb ohne Reaktion innerhalb 6 Stunden.

Versuch III. Einer gesunden Ratte wird Blut entnommen. 0,1 ccm des Blutserums werden 0,6 ccm Wasser und 0,6 ccm Tanretisches Reagens hinzugesetzt. Von dem Zentrifugat werden 0,8 ccm der klaren Flüssigkeit abgehoben und mit 0,8 ccm Eisessig gemischt. Von der Mischung werden 0,8 ccm mit Xanthydrolösung geprüft.

Es tritt Trübung ein bei einer Verdünnung von 1 : 13 nach 48 Minuten, von 1 : 25 nach 2 Stunden.

Bei einer Verdünnung von 1 : 50 bis 1 : 400 trat über Nacht innerhalb 13 Stunden geringe, aber deutlich erkennbare Krystallabscheidung ein.

Versuch IV. Zur Untersuchung kommt das Blutserum einer nach Sozialfütterung schwerkranken Ratte. Der Versuch wird wie in III angesetzt.

Ergebnis :

- | | | | | | |
|----|--------------|------|------|--------------------------|---------|
| 1. | Trübung nach | 8 | Min. | bei einer Verdünnung von | 1 : 13 |
| 2. | „ | 8 | „ | „ | 1 : 25 |
| 3. | „ | 12 | „ | „ | 1 : 50 |
| 4. | „ | 26 | „ | „ | 1 : 100 |
| 5. | „ | 60 | „ | „ | 1 : 200 |
| 6. | „ | 2—13 | Std. | „ | 1 : 400 |

Um die Reaktionszeiten und damit auch die Möglichkeit einer Berechnung des Harnstoffgehaltes im Serum noch genauer zu gestalten, wurde von beiden Seren die doppelte Menge angesetzt. Es wurden also 0,2 ccm der Seren mit 0,5 ccm Wasser und 0,7 ccm Takret vorbehandelt und die klare Flüssigkeit dann mit Xanthydrol versetzt. In dem Normalserum trat die Krystallabscheidung nach 30 Minuten, in dem „Sozial-Serum“ bereits nach 2 Minuten ein.

Die für die Beurteilung der Harnstoffmengen in den beiden Serumproben in Betracht kommenden Fällungszeiten sind für das *Normalserum* in einer Verdünnung 1 : 6,5 = 30 Minuten, 1 : 13 = 48 Minuten,

für das *Sokialserum* in einer Verdünnung 1 : 6,5 = 2 Minuten, 1 : 13 = 8 Minuten.

Nach der oben angeführten Tabelle der Fällungszeiten in rein wässrigen Lösungen würden sich aus den vorstehenden Zahlen die nachstehenden Konzentrationen des Harnstoffs im Blutserum berechnen:

Verdünnung	Fällungszeit	Harnstoffverdünnung	Harnstoff im Serum
<i>Normalserum</i>			
1 : 6,5	30 Min.	1 : 60 000	etwa 1 : 10 000
1 : 13	48 „	1 : 100 000	„ 1 : 8000
<i>Sokialserum</i>			
1 : 6,5	2 „	1 : 13 000	„ 1 : 2000
1 : 13	8 „	1 : 35 000	„ 1 : 2700

Wir haben also im Normalserum schätzungsweise einen Gehalt von 1 Teil Harnstoff in 9000 Teilen Serum, im Sokialserum dagegen bereits in etwa 2400 Teilen Serum, mit anderen Worten: Im Falle der Sokialvergiftung ist der Harnstoffgehalt des Serums etwa 4mal so hoch wie in einem normalen Serum.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt man bereits durch den Augenschein, d. h. beim Vergleich der Menge des entstandenen Niederschlags im Fällungsgefäß (siehe Lichtbild).

Zu ganz ähnlichen Ergebnissen kam ich bei der Untersuchung des Serums der Ratte I im Gewicht von 240 g, welche 60 mg Sokial subcutan bekommen hatte, und von der in der Agonie das Herzblut entnommen wurde.

Die Ausscheidung der Dixanthyl-Harnstoffkrystalle erfolgte in Verdünnung

1 : 13	nach	1 Min.	= 1 : 7 500 = 1 : etwa 600
1 : 25	„	3 „	= 1 : 15 000 = 1 : „ 600
1 : 50	„	15 „	= 1 : 35 000 = 1 : „ 700
1 : 100	„	20 „	= 1 : 50 000 = 1 : „ 500
1 : 200	„	1 Std.	= 1 : 100 000 = 1 : „ 500

Wir haben hier sogar noch eine bedeutend größere Harnstoffanreicherung im Blut als bei dem vorher angeführten Versuchstier. Der höhere Gehalt an Harnstoff erklärt sich hier zwanglos aus der längeren Krankheitsdauer dieses Tieres, wodurch eine weitere Anreicherung des Harnstoffs im Blut stattfand.

Um nun den Harnstoff auch exakt *analytisch-chemisch* zu bestimmen, bediente ich mich des in jüngster Zeit von *Grifols y Roig* und *Helmholz*¹¹⁾ angegebenen Verfahrens. Dieses beruht auf der colorimetrischen Bestimmung des aus dem Harnstoff durch die Urease gebildeten Ammoniaks.

Es wurden 0,5 ccm Blutserum (oder bei der Untersuchung von Harn 0,02 ccm) mit 0,2 ccm einer Phosphat-Pufferlösung (4,6 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ und 23,9 g

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) und 1 ccm Soja-Ureaselösung sowie etwa 5 ccm Wasser bei 45° 5—6 Stunden gehalten. Die so gewonnene Ammoniumcarbonatlösung wird in einem 50 ccm Meßkölbchen mit 1 g völlig ammoniakfreiem Natrium-Permutit (Permutit A.-G., Berlin NW 6, Luisenstr. 30) 10—15 Minuten lang stehengelassen, so daß das Ammoniak vom Permutit chemisch gebunden wird. Durch vorsichtiges Dekantieren wird das Permutit 4—5 mal mit je 4—5 ccm Wasser von den Serumbestandteilen befreit, was leicht ohne Permutitverlust geschehen kann. Der so ausgeschiedene Permutit wird mit etwa 10 ccm destilliertem Wasser, dann mit 2 ccm 20 proz. Natronlauge und nach etwa 2 Minuten nach dem Auffüllen mit destilliertem Wasser bis fast zur Marke und wiederholtem guten Durchschütteln und darauffolgendem Stehenlassen des Kolbens mit 2 ccm Nessler's Reagens versetzt. Nach dem Auffüllen zur Marke erfolgt dann colorimetrische Bestimmung durch Vergleich mit einer Ammoniumsulfatlösung ($0,283 : 500 \text{ ccm} - 1 \text{ ccm} = 0,12 \text{ mg}$ Stickstoff).

Die Vorversuche ergaben, daß zur Gewinnung einer wirksamen Ureaselösung die von den Verfassern angegebene Vorschrift nicht zum Ziele führte. Es muß die Mischung von 5 g Sojabohnenmehl, das übrigens vorher durch Äther von Fett zu befreien ist, mit 2 g Permutit und 50 ccm Wasser statt 10 Minuten mindestens 6—8 Stunden unter häufigem Schütteln stehengelassen werden. Auch muß die dann filtrierte Ureaselösung mindestens 5—6 Stunden auf das Serum-Phosphatgemisch einwirken, und nicht etwa, wie vorgeschrieben, nur 10—15 Minuten lang; bei kürzerer Einwirkung ist die Spaltung nur unvollständig. Daß die Reagentien bei einer solch empfindlichen Reaktion völlig ammoniakfrei sein müssen, ist selbstverständlich. Das Wasser befreite ich von Ammoniak durch erneute Destillation nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure; es gelingt aber auch nach *A. Kolb*¹⁵⁾, das destillierte Wasser völlig ammoniakfrei zu erhalten durch Schütteln mit einer nicht zu kleinen Menge von Natrium-Permutit (5 g auf 1 l).

Den Farbvergleich führte ich aus mit dem von *Leitz* hergestellten *Colorimeter mit völlig symmetrischem Strahlengang nach Bürker*. Es wurde so nach dem beschriebenen Verfahren in 0,5 ccm des Normalserums einer Ratte, das bereits für die Fällungsreaktion benutzt war, ein Gehalt von 0,035 mg Stickstoff = 0,075 mg Harnstoff ermittelt. In 0,5 ccm des Serums der erkrankten und getöteten Ratte Nr. 21 0,183 mg Stickstoff = 0,392 mg Harnstoff. *1 Teil Harnstoff ist also in rund 6700 Teilen des Normalserums bzw. in 1270 Teilen des Sokiälerums enthalten, also ist durch den Übertritt des Harnstoffs in das Blut (Urämie) der Harnstoffgehalt des Blutes auf über die 5fache Menge gestiegen. Die hier erhaltenen Werte stimmen recht befriedigend mit den durch Schätzung erhaltenen Werten bei der Fällungsmethode überein, namentlich unter Berücksichtigung des Umstandes, daß mit dem Permutitverfahren nicht nur der Harnstoff, sondern auch das im Blut als solches vorhandene Ammoniak mit bestimmt wird, während bei der Xanthhydrolyse nur der Harnstoff allein zur Bestimmung gelangt.*

Neben den oben angegebenen Versuchen über die Wirkung des Sokials bei den verschiedenen Anwendungsweisen wurde weiter festgestellt, ob von den Tieren *Giftfutter* auch dann genommen wurde, wenn es ihnen neben einer genügenden Menge *giftfreien Futters* gereicht wurde und ob die Menge des so aufgenommenen Giftes genügte, die Tiere zu töten.

Versuch I. Den Tieren wurde giftfreier Brotbrei und Brotbrei mit Sokial gereicht.

Die Mäuse 36, 37 und 38 erhielten 5 g Normalfutter und 5 g Futter mit 0,1 g = 2% Sokial. Die Mäuse 36 und 38 starben nach 1—2 Tagen, die Maus 37 war nach 4 Tagen tot.

Die Mäuse 39, 40 und 41 bekamen dieselben Mengen Futter. Es wurden 0,25 g = 5% Sokial hinzugesetzt. Diese Mäuse starben nach 24—36 Stunden. Die Mäuse 42, 43 und 44 erhielten zum Giftfutter einen Zusatz von 0,5 g = 10% Sokial.

Maus 42 war nach 24—36 Stunden tot. Die Mäuse 43 und 44 starben nach 3 Tagen.

Sämtliche Mäuse — 36 bis 44 — hatten das Futter von beiden Sorten nicht restlos verzehrt. Sie hätten also Gelegenheit gehabt, ihr Nahrungsbedürfnis zu befriedigen, ohne gezwungen zu sein, das Giftfutter aufzunehmen. 14 Stunden nach der Fütterung wurde den Versuchstieren nur Normalfutter gereicht. Sie hatten mithin in 14 Stunden freiwillig die tödliche Menge des Giftfutters verzehrt. *Ein Zusatz von 2% Sokial war genügend, um die Mäuse, die das Futter annahmen, zu töten.*

Versuch II wurde in derselben Weise mit einem Futter gemacht, das aus einem Haferflockenmilchbrei bestand. Dem Giftfutter waren 5% Sokial und eine Spur Kuchengewürzaroma zugesetzt. Das Futter wurde von den 3 damit gefütterten Mäusen (45, 46 und 47), die getrennt gehalten wurden, in gleich guter Weise aufgenommen. Von beiden Sorten Futter blieben Reste übrig. Der Zusatz des Kuchengewürzaromas hatte den Tieren das Giftfutter nicht schmackhafter gemacht, so daß es überflüssig zu sein scheint, die Giftbrocken durch irgendwelche Geschmackskorrigentien zu verbessern.

Im III. Versuch wurden 2 Ratten (18 und 19) 25 g Normalfutter, das aus Haferflocken mit Milch bestand, und 25 g Sokialfutter (0,5 g = 2% Sokial) verabreicht. Das Sokialfutter wurde auch von den Ratten gut aufgenommen. Den Tieren wurde dann reichlich Wasser zur Verfügung gestellt. Sie gingen nicht ein, offenbar weil durch die reichliche Wasserzufuhr eine Auflösung oder Ausschwemmung der Krystalle in den Harnkanälchen stattgefunden hatte.

Schließlich wurden auch noch Prüfungen der Handelspräparate — Sokialkuchen und Sokialweizen — vorgenommen.

Der von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. zur Ver-
nichtung von Wühlmäusen in den Handel gebrachte „Sokialkuchen“
wurde 2 Ratten (20 und 21) neben mit Wasser gut durchtränkten
Brotschnitten in gleichen Mengen geboten. Die eine Ratte fraß von
dem Giftkuchen, dessen Köder allerdings besonders auf Wühlmäuse
eingestellt ist, nur wenig und ging nicht ein. Die 2. Ratte Nr. 21 fraß
von beiden Brocken gleich viel und starb nach 4 Tagen. Von dieser
Ratte 21 wurde das Herzblutkoagulum zur Feststellung der Anreicherung
des Harnstoffs im Blut benutzt.

Zur Prüfung des Sokialweizens wurden Mäuse benutzt.

Maus 48	erhielt	2 Körner	Sokialweizen,	Tod	trat	nicht	ein
„ 49	„	4	„	„	„	„	„
„ 50	„	6	„	„	„	nach 3	Tagen
„ 51	„	8	„	„	„	„	2
„ 52	„	10	„	„	„	„	2

Maus 53 und 54 erhielten je 100 Körner Weizen und 100 Körner Sokialweizen.

In den ersten 24 Stunden wurden gefressen:

von Maus 53 7 Körner Normalweizen u. 10 Körner Sokialweizen,
von Maus 54 27 Körner Normalweizen u. 21 Körner Sokialweizen.

In den weiteren 24 Stunden fraß

Maus 53 0 Körner Normalweizen u. 2 Körner Sokialweizen,

Maus 54 3 Körner Normalweizen u. 11 Körner Sokialweizen.

Der Tod trat bei den letzten beiden Mäusen nach 2 Tagen ein.

*Es genügen also 5 Körner Sokialweizen, der ebenso gern aufgenommen
wurde wie der nicht vergiftete Weizen, um Mäuse zu töten.*

Obwohl aus dem angegebenen Schrifttum hervorgeht, daß verhält-
nismäßig große Mengen des 3-Methylxanthins für Hunde, Kaninchen
und auch für Tauben unschädlich sind, wurden noch einige Versuche
vorgenommen, in denen besonders große Dosen des Präparates Ver-
suchstieren dargereicht wurden.

1. Ein Kaninchen im Gewicht von 1700 g erhält 1,7 g in Wasser aufge-
schwemmtes Sokial mit der Schlundsonde. Das Tier läßt Krankheitserscheinungen
bei längerer Beobachtung nicht erkennen.

2. Ein Hund im Gewicht von 6,5 kg erhält 2 g Sokial mit dem Futter. Eine
Gesundheitsschädigung tritt nicht ein.

3. Ein Huhn bekommt 30 g Sokialweizen = etwa 600 Körner. Das Futter
ist nach 24 Stunden noch nicht ganz verzehrt, obwohl andere Nahrung dem Tiere
nicht zugänglich ist. Vergiftungserscheinungen treten nicht auf.

4. Eine Taube im Gewicht von 400 g erhält 15 g = etwa 300 Körner Sokial-
weizen als ausschließliche Nahrung. Nach 48 Stunden sind 4 g noch nicht ge-
fressen. Der Taube sagt also, ebenso wie dem Huhn, der Sokialweizen als Futter
nicht zu. Vergiftungserscheinungen treten nach Aufnahme von etwa 220 Körnern
nicht auf.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß das Sokial als für Haus-
tiere in den oben gegebenen Dosen ungiftig ist; hat doch das Kaninchen

die mindestens 8fache, der Hund die 10fache Menge der für Ratten tödlichen Sokialdosis vertragen. Die Taube verzehrte etwa die 30fache und das Huhn etwa die 100fache Menge der für Mäuse tödlichen Sokialdosis, ohne Vergiftungserscheinungen zu zeigen.

Aus dem Ausfall dieser Fütterungsversuche an Kaninchen, Hund, Huhn und an der Taube läßt sich vermuten, daß das 3-Monomethylxanthin in den Mengen, wie es bei der Ratten- und Mäusevertilgung verwendet wird und von Haustieren zufällig aufgenommen werden kann, auch für größere Haustiere (Ziegen, Schafe, Rinder, Pferde) unschädlich ist.

Zusammenfassung.

1. Das 3-Monomethylxanthin (Sokial) tötet

Mäuse

bei subcutaner Applikation bei Dosen von	1 $\frac{1}{2}$ mg
„ intravenöser „ „ „ „	1 $\frac{1}{2}$ mg
„ peroraler „ „ „ „	20 mg

Ratten

bei subcutaner Darreichung bei Dosen von	20—30 mg
„ peroraler „ „ „ „	200 mg.

2. Das Sokial wird in den Harnkanälchen krystallinisch ausgeschieden, wie durch mikroskopische Untersuchung der Nieren festgestellt wurde.

3. Die durch die Krystallabscheidung bewirkte Verstopfung der Harnkanälchen führt zum Auftreten einer Urämie.

4. Das Vorhandensein einer Urämie wurde festgestellt:

- a) Durch schätzungsweise Bestimmung des Harnstoffs im Serum in Form des Dixanthylharnstoffs durch Fällung mit Xanthydrol nach *Fosse*.
- b) Durch exakte colorimetrische Bestimmung des Harnstoffs zusammen mit dem primär im Serum vorhandenen Ammoniak durch das Permutitverfahren nach *Roig* und *Helmholz*.

5. Die Laboratoriumsversuche an Mäusen und Ratten ergaben, daß das 3-Monomethylxanthin (Sokial) ein gutes Vertilgungsmittel für diese kleinen Nager ist, da es leicht anwendbar ist und von den Tieren gern genommen wird. Es ist nach den bisher vorliegenden Versuchen anzunehmen, daß es für Haustiere, wohl auch für den Menschen unschädlich sein dürfte.

Literaturverzeichnis.

1) *Parker*, Zuschlag sowie biol. Inst. der Vereinigten Staaten, zit. nach *Herfs*, Nachrichten der landwirtschaftlichen Abteilung der Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co., Leverkusen 1924, Heft 2, S. 29. — 2) *Ostertag*, Handbuch der Fleischschau. 1913. 6. Aufl., Bd. II, S. 159. — 3) *Neumark* und *Heck*, Über Ratten-

vertilgungsmittel. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. 1, Orig.: **87**, 39. 1922. — ⁴) *Manteuffel*, Bemerkungen zum Vortrage von Neumark und Heck. Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 49, S. 1445. — ⁵) *Albanese*, Über die Wirkungen des 7- und des 3-Methylxanthins. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **43**, 305. 1900. — ⁶) *Ach*, Über die diuretische Wirkung einiger Purinderivate. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **44**, 319. 1900. — ⁷) *Impens*, Sur la 3-Monométhylxanthin. Arch. internat. de pharmacodyn. et de Thér. **10**, 463. 1902. — ⁸) *Friedberger* u. *Fröhner*, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere, 5. Aufl., 1900, Bd. I, S. 397. — ⁹) *Hutyra* und *Marek*, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. 5. Aufl., 1920, S. 1090. — ¹⁰) *Fosse*, *Robyn* und *François*, Analyse quantitative gravimétrique de l'urée dans le sang. Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences, Paris 1914. **149**, 367. — ¹¹) *Grifols y Roig* und *Helmholz*, Einfache minimetrische Methode zur Bestimmung des Harnstoffs im Blut, in der Spinalflüssigkeit und im Urin mit Hilfe von Permutit. Dtsch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 36, S. 1217. — ¹²) *Kolb*, Über die Anwendung von Permutit zur Trennung und Bestimmung des Ammoniaks im Harn. Chem. Ztg. 1924, Nr. 96, S. 557.
