

(Aus dem Laboratorium für Neurobiologie der Privatnervenheilstätte Sanatorium Cottage Istvánut, Budapest [Chefarzt und Chef des Laboratoriums: Dr. *Julius Schuster*].)

Über die Genese des epileptischen Anfalles im Lichte von Farbstoffversuchen.

Von

Dr. **Julius Schuster**,

emer. I. Assistenten der Psychiatrisch-neurolog. Universitätsklinik in Budapest.

Abgeschlossen am 30. Juli 1925.

(Eingegangen am 15. Januar 1926.)

In der Pathogenese der „genuinen“ (?) Epilepsie sind verschiedene Faktoren als zur Genese des Anfalles zweifellos wichtige Bedingungen von den Forschern angegeben. Als *Conditio sine qua non* sind die krankhaft veränderten Gehirnrindenzellen sowohl der Gyri centrali wie auch verschiedener Krampfbereiche angegeben. In letzter Zeit wurde durch die *O. Foerstersche Schule (Georgi)* die Theorie der Faktorenkuppelung aufgestellt, eine bemerkenswerte Idee, die der innersekretorischen Steuerung und einer ionogenen oder in manchen Fällen einer proteino-genen, mit der Vermehrung der labilsten Globuline einhergehenden Anfallsgenese aufgestellt. Hier tauchen die Ideen der Störung des Säure-Basengleichgewichtes der Säfte bei der Genese des epileptischen Anfalles auf. Erst vor kurzem beschäftigte sich *H. Richter* mit der Pathogenese des Migräneanfalles auf Grund seiner reichen Erfahrung, und durch eine scharfsichtige Ordnung seines Materiales rehabilitierte *H. Richter* die *Dubois'sche* Auffassung von der angiospastischen Entstehungsweise des Migräneanfalles, seiner Gedankenrichtung gab er die Ideen der *Palschen Gefäßkrisen* zur Unterlage. In seiner wertvollen Arbeit sagt *Richter*, daß ein im Gebiete der Art. cerebri med. entstehender vaso-vasaler Reflex (Vasokonstriktion als Endergebnis) verursache einen epileptischen Anfall. Die *Dubois-Pal-Richtersche* Idee ist sehr einleuchtend, da sie in den Ideenkreis von der Balance der Energien der vegetativen Zentren und der Störung dieses Hin- und Herwogens der nervösen Energie einfügbar ist.

Zur Symptomatologie der Epilepsie gehört nicht nur der *Krampfparoxysmus*, sondern die vor den Anfällen beobachtbaren verschiedenen „Aura“, der *Schlaf* und die *Erregungserscheinungen*, die vor und nach

den Anfällen oder während der Entwicklung und des Ablaufs der Anfälle in verschiedensten Formen beobachtbar sind.

Es sind Epilepsiearten bekannt, wobei nur psychische Ausnahmezustände, Dämmerzustände, Verwirrungen und Affektstörungen und Bewußtlosigkeit fast ohne Krämpfe vorkommen. Daß die Epilepsie nicht nur eine Erkrankung des Cortex cerebri ist, sondern die Stammganglien und das Mesencephalon an den Erscheinungen teilnimmt, geht aus den Ausführungen *Binswangers* und vieler anderer hervor.

Die Entstehung einer Sympathicotonie, deren Endergebnis ein Krampf der Art. cerebri media sein kann, wäre eine Phase eines Hin- und Herwogens der Energie von nervösen Zentren, die gewisse Impulse aus der Peripherie und von der Blutbahn aus bekommen. (Oft vernehmen wir, daß Epileptiker einen Krampf in der Brust, im Bauche bekommen, der Krampf steigt in den Hals und dann werden sie bewußtlos, wenn der Krampf von dem Brustkorb in die Bauchhöhle, in den After und in die Blasengegend hinabsteigt, entsteht kein Anfall, die Kranken werden nicht bewußtlos.)

Das Ausbleiben der spontanen Rhythmik der in Epileptikerserum versenkten Gefäßstreifen ist eine Störung der Funktion der Endigungen des Sympathicus in der Gefäßwand (*O. B. Meyer*).

W. Storm van Leeuwen und *Zeydner* haben im Blut von Epileptikern eine toxische Substanz isoliert und mit derselben Versuche am isolierten Katzendarm gemacht. *A. J. Carlson* stellte fest, daß die durch Exstirpation der Para thyreoideae entstehende Tetanie von Darmgiften herrührt, die sich bei der Tätigkeit der Kolonbakterien aus den Proteinen der Nahrung entwickeln.

Die Versuche *Clara Jacobsons* zeigten, daß die elektrische Erregbarkeit des Muskels des mit Parathyreoïprivenblut durchströmten Beines des Hundes gesteigert ist, im Vergleich mit dem anderer, nicht durchströmter Beine. Das Serum des Epileptikers zeigt eine bestimmte Veränderung (*De Crinis* und *Wuth*), und es ist eine Frage, ob an dieser Veränderung der Blutzusammensetzung selbst das Nervensystem, die innersekretorischen Drüsen oder aber, außer dem erwähnten Gebilde, andere Organe des Körpers beteiligt sind.

Es mußten in erster Reihe Belastungsversuche in anderer Richtung, wie sie von *De Crinis*, *Wuth* durchgeführt worden sind, gemacht werden. Die Frage des Säure-Basengleichgewichtes und dessen Rolle bei der Entstehung von Krämpfen weiter studiert werden.

Man mußte wiederum an die Versuche und Methodik des Altmeisters der experimentellen Pathologie *S. Ehrlichs* anknüpfen, der seine Versuche mit Farbstoffen begann, da er die Stoffverteilung unter verschiedenen Gesichtspunkten studierte, einmal nach der chemischen Struktur und Organotropismen der Stoffe und der Gewebe.

Es seien die wichtigsten Ergebnisse *Ehrlichs* wiedergegeben. Es wurden von *Ehrlich* die Antitoxine, welche nur durch ihre spezifische Wirkung erkennbar sind, mit den modernen, synthetisch hergestellten Medikamenten und deren Wirkungen verglichen. *P. Ehrlichs* Standpunkt war, daß beide Prinzipien auf rein chemischem Wege ihre Kräfte entfalten, so ergeben sich ohne weiteres Fragestellungen, die für die Fortbildung der Therapie von großer Bedeutung sind. *P. Ehrlich* hatte 1. durch die Einführung der Reagensglasversuche, 2. durch systematische Erforschung der gegenseitigen Sättigungsverhältnisse und 3. durch den Nachweis der Toxoide und ihrer verschiedenen Modifikationen der *chemischen* Auffassung in weiten Kreisen Geltung verschafft.

Ehrlich konnte zeigen, daß sowohl Medikamente bekannter Konstitution als auch die biotherapeutischen Produkte *nur* auf chemischem Wege wirken, beide chemisch den Organismus beeinflussen; so hatte *P. Ehrlich* die Wirkungsweise chemisch gut erkannter Körper studiert.

Das Studium der Beziehungen von chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung wurde schon 1859 begonnen. *Stahlschmiedt* zeigte, daß die Wirkung von Strychnin durch Einführung einer Methylgruppe seine tetanisierende Wirkung einbüße und in ein Gift von lähmender Wirkung wie *Curare* übergeht.

Da sich bei der Methylierung eine Ammoniumbase bildet, untersuchten *Frazer* und *Brauns* eine Reihe von anderen Ammoniumbasen, welche sich von verschiedenen Alkaloiden ableiteten, und stellten fest, daß allen diesen verschiedenen Körpern curareartige Wirkung zukommt.

Böhm konnte den Beweis führen, daß das *Curarin* selbst eine Ammoniumbase ist.

In den Curaresorten ist ein tertiäres Alkaloid *Curin* enthalten (*Böhm*), dies hat geringe Toxizität. Wurde das *Curarin* methyliert, so entstand eine Ammoniumbase, die in ihren Eigenschaften und Wirkungen vollkommen dem natürlichen Curarin entsprach, und *etwa 260mal so toxisch war als der Ausgangskörper*.

Daß im *Chinin* ein *hydriertes Chinolinderivat* enthalten ist, hatte man gewußt, und man versuchte, durch einfache Verbindungen den gleichen Zweck zu erreichen, so kam man auf das *Antipyrin*.

Die Entdeckung des Phenacetins und seiner Verwandten verdankt die Therapie einer Verwechslung, also einem Zufall.

Das Studium des *Cocains* brachte die Entdeckung des Orthoforms, Eucains; die Entdeckung der Schlaf herbeiführenden Wirkung des *Sulfonals* verdanken wir *Baumann*.

Immerhin ist noch die Ausbeute der Lehre von dem Zusammenhang zwischen Konstitution und Wirkung noch eine dürftige.

Wir wissen, daß die antiseptische Wirkung der *Anilin-* und *Amido-*

phenolderivate (Phenacetin) der Menge des im Organismus abgespaltenen *p*-Amidophenols proportional ist (*Hinsberg*). Wenn die *Amidogruppe* oder des *Kernes p-Amidoacetophenon* durch ungeeignete Substitution der Amidogruppe das Freiwerden von *p*-Amidophenol nicht zulassen, sind es schlechte Subfebrilia.

Gewisse *Disulfone* haben eine schlafferregende Wirkung, diese beruht auf der Anwesenheit von Äthylgruppen; die schlafferregende Eigenschaft wächst mit der Zahl der Äthylgruppen.

Sulfonal $(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{C} \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5)_2$.

Trional $\text{CH}_3 \cdot (\text{C}_2\text{H}_5)_6 \cdot \text{C} \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5)_2$.

Amylenhydrat $\text{C}(\text{CH}_3)_2 \cdot (\text{C}_2\text{H}_5)_3 \cdot \text{OX}$.

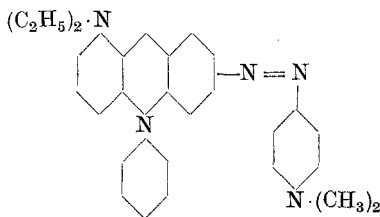
Äthylmethan $\text{NH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{O} \cdot \text{C}_2\text{H}_5$.

Dulcin ist in Parastellung atoxylierter Phenylharnstoff $\text{C}_2\text{H}_5 \cdot \text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$, weder Phenylharnstoff noch die Methoxy-Verbindung des Dulcins.

$\text{CH}_3 \cdot \text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$ sind süß, daher verdankt das Dulcin die Eigenschaft der Süßigkeit der Äthylgruppe. Äthylalkohol.

Diese Körper beeinflussen das Nervensystem. Die Äthylgruppe ist in einer gewissen Beziehung zum Nervensystem.

P. Ehrlich und *Michaelis* fanden, daß ein *blaugrüner Azofarbstoff* eine Kombination von diazotiertem Diäthylsaffranin und Dimethylanilin ähnlich wie *Methylenblau* die Nervenendigungen überlebender Organe färbt, aber die entsprechenden Farbstoffe, die sich vom Saffranin, Tolu-saffranin und Dimethylsaffranin ableiten, haben diese Fähigkeit nicht.



Diese Beobachtungen bestätigen die Wirkungsweise des *Äthyls*.

Man darf aber rein chemische Betrachtungen auf biologische Vorgänge nicht übertragen. Für die Beziehungen, welche zwischen physikalischen Eigenschaften und chemischer Konstitution bestehen, ist umfassendes Material vorhanden.

Essigsäure, Milchsäure, Traubenzucker enthalten dieselben Elemente in gleichen Gewichtsverhältnissen und zeigen ganz verschiedene Reaktionsfähigkeiten, Buttersäure und Essigester sind nicht nur gleich zusammengesetzt, sondern haben auch gleiches Molekulargewicht und dennoch verschiedene Affinitäten.

C. Graebe und *C. Liebermann* hatten nachgewiesen, daß die Färbung an eine gewisse dichtere Verbindung der Atome geknüpft sei; wird diese

durch Anlagerung von Wasserstoff aufgehoben, so verschwindet die Farbe, der Farbstoff geht in die Leukoverbindung über (Indigo im Indigoweiß).

Die Untersuchungen von *O. N. Witt* über *chromophore* Anwesenheit einer bestimmten ungesättigten Atomgruppe bedeuteten einen weiteren großen Fortschritt. *Nietzki* konnte beweisen, daß die chromophoren Gruppen nicht als solche zur Wirkung kommen, wenn sie in kohlenstoff-armen Komplexen stehen.

In der Fettreihe kommen gefärbte Verbindungen nur ganz selten vor, sie gehören fast ausschließlich den cyclischen Verbindungen an. (*Nietzki*). Die Anwesenheit des *Chromophors* Azobenzol ist ein Chromogen, eine Verbindung, welche durch den Eintritt geeigneter Gruppen in einen wirklichen Farbstoff übergeht. Radikale, welche die Farbstoffnatur entwickeln, bezeichnet man nach *Witt* als auxochrome, und zwar kennt man nur zwei Arten, die OH-Gruppe, welche Farbstoffe von saurem Charakter, und die *Amidogruppe*, welche basische Farbstoffe erzeugt.

Im Gegensatz hierzu wirken andersartig salzbildende Gruppen nicht auxochrom; dies gilt von der *Carboxylgruppe* und dem Rest der Sulfosäuren als sauren Komplexen, andererseits von gewissen basischen Resten wie dem Ammoniumrest, der Gruppen $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{CH}_2 \cdot \text{N} \cdot (\text{CH}_3)_2$ und $\text{O} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N} \cdot (\text{CH}_3)_2$.

Von den Chromogenen leiten sich zwei Reihen von Farbstoffen ab, saure und basische; zu jedem sauren gehört ein basisches Analogon.

Oxyazobenzol (<i>sauer</i>)	Amidoazobenzol (<i>basisch</i>)
Dioxyazobenzol	Diamidoazobenzol
<i>Rosolsäure</i>	<i>Rosanilin</i>
Thionol	Thionolin
Aposaffranon	Aposaffranin

Nietzki hatte bewiesen, daß nicht nur durch die schon erwähnte Vermehrung der auxochromen Gruppen, sondern auch durch Anhäufung von Kohlenstoffatomen im Molekül die Tiefe der Farbe zunimmt.

Rosanilin	— rot
Trimethylrosanilin	— rotviolett
Hexamethylrosanilin	— blauviolett
Triphenylrosanilin	— blau.

Auf physiologisch wirksame Körper kann man in manchen Fällen diese Anschauungen überführen.

Im *Cocain* stellt der *esterartig* gebundene Benzoylrest $\text{CO} \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ die anästhesierende Gruppe dar, aber das im *basischen Komplex* enthaltene *tertiäre Amin* stellt ein Analogon der auxochromen Gruppe dar. *P. Ehrlich* verdanken wir die Feststellung, daß bei *Methylierung* des *tertiären* Amins des Cocains eine *quaternäre* Ammoniumbasis erzeugt wird, und das Cocain verliert seine anästhesierende Eigenschaft.

Durch vollkommene Methylierung verlieren tertiäre Gruppen die Fähigkeit, auxochrom zu sein, während die Ammoniumreste, die entstehen, nur eine erhöhte Löslichkeit bedingen.

Hexamethylviolett — mit 3 Dimethylamidoresten Methylrot — geht in lösliches Methylgrün über mit 2 Dimethylamido- und einer Ammoniumgruppe.

Carboxymethylgruppe $\text{CO} \cdot \text{OCH}_3$, die die dritte Gruppe des Cocains darstellt, hat keine wichtigeren Eigenschaften, sie fehlt in dem sehr stark anästhesierenden Benzoylpseudotropein.

Es gibt eine ganze Reihe von Giften, welche durch geeignete Substitution „entgiftet“ werden können: die Reste der Schwefel- und Kohlensäure. Anilin ist toxisch, Sulfanilsäure ist ungiftig, Phenol ist giftig, m- und p-Oxybenzoesäure ungiftig, die o-substituierte Isomere (Salicylsäure) giftig.

P. Ehrlich hatte in seinen Farbstoffinfusionsversuchen nachgewiesen, daß die basischen Farbstoffe die graue Nervensubstanz zu färben imstande sind:

Chrysoidin
Bismarckbraun
Neutralrot
Phosphin
Flavanilin
Methylenblau

aber von den sauren Farbstoffen, in denen das OH als auxochrome Gruppe fungiert, nur das *Alizarin* dieselbe Fähigkeit besitzt.

Neurotrope Farbstoffe, wenn man in ihnen *Sulfosäuren* einführt (Alizarinsulfosäuren, Flavanilinsulfosäuren) verlieren ihre Fähigkeit, die Ganglienzellen der grauen Rinde zu färben.

Der rein zentrale Teil der Giftwirkung, durch den eine Speicherung des toxischen Agens im Zentralnervensystem erklärt werden konnte, wird durch die Einführung eines Schwefelsäurerestes vollkommen aufgehoben.

Die Verteilung der Stoffe ist ein besonders wichtiger Faktor, der zwischen chemischer Konstitution und pharmakodynamischer Wirkung zu berücksichtigen ist.

Acridinorange	Niere (Rinde), Leber
Dimethylamidomethylenblau	Thyreoidea
Dimethylphenylengrün	Fettgewebe
Alizarinblau	Submaxillaris
Neutralrot	
Brillanteresylblau	Gleichmäßige, Färbung

Methylenblau, Fuchsin, Alizarin, Indigcarmin scheiden durch den Harn aus.

Durch die Galle und Darmsaft scheiden die hochmolekularen Baumwollfarbstoffe, die *diazotierten Toluidin- und Naphthylaminsulfosäurefarbstoffe* aus.

Benzopurpurin ist im Gegensatz zum Methylenblau und Methylviolett absolut nicht diffusionsfähig.

Neutralrot und *Brillanteresylblau* (Oxazinfarbstoff) färben vital die Mehrzahl der Granula.

Rehn konnte experimentell beweisen, daß bei mit Paraphenyldiamin vergifteten Tieren, nach Obduktion, die Muskeln braungefärbt werden; Paraphenyldiamin und Paramidophenol werden durch Oxydation zu echten braunen und schwarzen Färbungen von Haaren und Pelzen verwendet. *Ehrlichs* Versuche mit Acethylparaphenyldiamin, Thiosulfosäure und Mercaptan des Paraphenyldiamins zeigen die Braunfärbung des Zwerchfelles der vergifteten Tiere. Nach *Ehrlich* handelt es sich hier nicht um Infarkte, auch nicht um Hämolyse, sondern um ein hochmolekulares Oxydationsprodukt des Paraphenyldiamins.

Das wichtigste Prinzip der Farbstoffverteilung ist, daß *myotrope und neurotrope Stoffe* allein durch die Art der Blutversorgung eine isolierte Schädigung bestimmter Systeme hervorrufen können.

Ein sauerstoffgesättigter Muskel oder Gewebe kann gewisse Stoffe oxydieren und so entgiften, und sauerstoffarme Gebilde, Organe, können gewisse Gifte nicht entgiften.

Man kann nach *P. Ehrlichs* Versuchen den Verteilungstypus eines Stoffes durch chemische Mittel abändern.

Methylenblau färbt die Nervenendigungen im lebenden Zustande; nach Zufügung einer *Orange-G-Lösung* (so viel, daß eine grüne Lösung entsteht) vernichtet es die Färbung der Nervenendigungen. Es handelt sich um die Verteilung von *Menthylemblau* zwischen der sauren Farbe und den Gewebsbestandteilen; dies ist ein Analogon der Wirkungsart der Antitoxine gegenüber den spezifischen Toxinen.

Durch Versuche mit Vitalfärbungen kann man auch entgegengesetzte Erscheinungen zeigen, durch gleichzeitige Zuführung einer zweiten Verbindung, welche mit der ersten keinerlei Verbindungen einzugehen braucht, ermöglicht man die Anfärbung eines bestimmten Gewebes mit einem Farbstoff. Z. B. *Bismarckbraun* (*basischer Azofarbstoff*) hat *neurotrope Eigenschaft*, in der Färbung des Hirngraues; periphere Nervenendigungen kann es aber nicht färben.

Methylenblau- und *Bismarckbraun-*Gemisch ergibt eine Färbung mit einem Mischton, Blaubraun; Blau verschwindet, Braun bleibt bestehen.

Methylenblau und Triphenylmethanfarbstoffe färben Nervenendigungen brillant (*P. Ehrlich*).

Daß chemische Stoffe direkt durch *Kontakt* wirken können, konnte schon früher bewiesen werden (Blausäurevergiftung). „Eine innere Erstickung der Organe“ (*Buchheim, Schmiedeberg, Harnack und Geppert*, (1859—1883).

Ganz bedeutend ist die Entdeckung *P. Ehrlichs* über die *Wirkungsweise und Verteilung der Stoffe in den Geweben* (1887). Nach ihm *verlieren die neurotrophen Farbstoffe durch Eintritt der Sulfosäuregruppe diese neurotrope Eigenschaft*. Alkaloide und Farbstoffe wirken, indem sie sich im Gehirn verbreiten, im Sinne des Prinzips des *Stas-Otto-Gesetzes*. Die *Stas-Ottosche* Ausschüttelung von Giften beruht darauf, daß basische Körper (Alkaloide) in sauren Lösungen fest gebunden, daher schwer extrahierbar sind, aus alkalischen Lösungen leicht ausgeschüttelt werden können. Saure Körper zeigen natürlich gerade das umgekehrte Verhalten, sie werden durch alkalische Medien zurückgehalten, von sauren leicht abgegeben.

Basische Farbstoffe werden vom Gehirn aufgenommen; Farbsäuren, Sulfosäuren, die durch die Alkalien des Blutes in Form von Salzen gebunden und in ihm verändert werden, zeigen gerade das entgegengesetzte Verhalten.

Ich konnte aber zeigen, daß Ehrlichs Behauptung, daß sulfosaure Farbstoffe vom Gehirn nicht aufgenommen werden, nicht stimmt. Methylblau A—J wird vom Gehirn aufgenommen, und gewisse Zeit wird das Methylblau in den Ganglienzellen des Zentralnervensystems adsorbiert. Dieser tautomere Farbstoff der Triphenylmethanreihe hat neurotrope Eigenschaften und verursacht Erregung, Betäubung, in höheren Mengen Krämpfe.

So habe ich geglaubt, Aufklärungen zu erreichen durch Farbstoffversuche, die ich mit *verschiedenen Mengen von sauren Indikatoren*, dann mit alkalischen Indikatoren angestellt habe, welche Indikatoren nach *Karczag* als zirkulierende *Elektroskope* zu betrachten sind.

Unter diesen Indikatoren habe ich eine Reihe von Farbstoffen gefunden, die *Neurotropie* zeigten und die *in einer großen Versuchsanordnung* ihre Fähigkeit zeigten, Betäubung und *psychische Erregung* hervorzurufen¹⁾.

Durch die *Veränderung der Versuchsanordnung* gelang mir nun durch Anwendung des neurotrophen Indikators Methylblau A. F. H. Betäubung, Erregung, aber auch Krämpfe und Betäubung, Schlaf bei Tieren (*Kaninchen, Katzen und Hunden*) hervorzurufen.

Der Sinn meiner Farbstoffexperimente war also folgender: Es wird ein saurer Indikator in verschiedener Menge intravenös und intraarteriell (in der Richtung der Zirkulation) in verschiedener Konzentration Tieren eingespritzt, die Springpunkte des Indikators wurden ermittelt, folglich wurde mit einem Indikator mit bekannten physikalischen Faktoren (Dispersität, elektrische Leitfähigkeit, Säuregrad) gearbeitet; die Tiere wurden auf ihr Benehmen, psychomotorisches Verhalten beobachtet; nachdem die Krämpfe abliefen und die Tiere in einen Zustand der Betäubung oder

¹⁾ *Schuster, J.: Supravitale Färbungsversuche des Zentralnervensystems. Arch. f. Psychiatrie u. Nervenkrankh. 73. H, 1/2.*

schlafartigen Zustand geraten sind, wurden sie getötet und sofort obduziert. Wir haben Tiere mit dem Farbstoff (mit sehr großen Dosen) getötet und dann obduziert. Es wurden mit dem Indikator intravenös und intraarteriell gespritzt Krämpfe mit den eben nötigen minimalen Dosen hervorgerufen und die Tiere wurden im Krampfanfall getötet und obduziert. Nach der Obduktion wurden *von allen* Organen, nicht nur vom Gehirn, Gefrierschnitte gemacht und dieselben untersucht.

Ich konnte die Adsorption des Farbstoffes an die Ganglienzellen der Stammganglien, der Gehirnrinde, der Plexus-chorioideus-Zellen, Gliazellen verfolgen, den Zeitpunkt der elektrost. Abstoßung der Farbstoffkörnchen feststellen.

Nun einiges über diese neurotrophen Farbstoffe der Triphenylmethane. Da diese Farbstoffe Indikatoreigenschaften besitzen, mußten die Umschlaggebiete festgestellt werden. Es wurden die Wasserstoffexponenten einiger wichtiger Farbstoffe festgestellt.

Die erste Zahl, die angegeben ist, deutet die erste wahrnehmbare Verblässung an, die zweite Zahl die praktische Farblosigkeit oder den Verlust des ursprünglichen Farbtones, die dritte Zahl bedeutet die vollständige Entfärbung (farblos in 10—15 cm dicken Schichten).

Zu 10 ccm der Pufferlösung wurden im alkalischen Gebiet 1,0 ccm, im sauren 0,5 ccm einer 0,2promill. wässerigen Farblösung gegeben; es wurde nach einigen Stunden abgelesen.

Rotviolett . . .	violett 4,1	blasser u. gelblicher	8,3 reingelb
Wasserblau . . .	blau 4,6	7,2	8,7 farblos
Säurefuchsin . .	rot 4,8	8,8	9,3 blaßgelb
Anilinblau w. l.	blau 4,8	9,3 gelblich	10,0 reingelb
Lichtgrün . . .	grün 6,8	9,7 gelblich	10,4 reingelb, verblaßt weit.
Pyrrholblau . . .	blau 8,5	11,3 gelblich	12,4 reingelb
Säure violett . .	violett 9,9	12,0 bläulich	Reinblau, blau verblaßt weit.
Methylblau F . .	blau 1,3	10,0 violett, wird blasser	12,6 bräunlich, reingelb verblaßt weiter
Methylblau A . .	blau 1,5	12,7 bräunlich	12,8 reingelb
Methylblau C . .	blau 2,3	14,2 gelblich	14,6 reingelb 15,8 reingelb

Krämpfe bei den verschiedenen Tierarten zu verursachen. So wurde festgestellt, daß bei Kaninchen 12½ ccm 2½proz. wäss. Lösung auf 1 kg Tier von *Methylblau A* *intraarteriell schwere Krämpfe und dann Betäubung hervorruft.* Aus Methylblau B—C, F 15 ccm.

Intravenös verabfolgt kann man bei Kaninchen und Katzen mit einer 2½proz. Lösung (wässerigen) von Methylblau A Krämpfe nur mit 25—30 ccm Lösung, nacheinander in 1—2 Minuten Pausen eingespritzt, schwere Krämpfe hervorrufen.

Ich habe auch feststellen können, daß die Tiere sich später erholen und daß die Krämpfe bei Benützung von Puffern ausbleiben. Ich

konnte mit dieser Methodik die Auffassung verschiedener Forscher bestätigen und bekräftigen und an Präparaten unter dem Mikroskop zeigen, daß es richtig ist, daß vor dem Krampfanfall eine Säuerung des Organismus vorliegt, diese Säuerung parierte die Alkalireserve des Blutes und des Organismus aus, worauf eine Alkalose folgt. Ich konnte aber den Beweis führen, daß gewisse Stoffe, die hier oder bei dem epileptischen Anfall elektrostatisch an die Ganglienzellen adsorbiert werden, dann abgestoßen werden; auf elektrostatischer Adsorption beruht die Erregung, der Reiz der Zellen im Zentralnervensystem. In einem Modellversuch mit einem tautomeren, intramolekularen, umwandlungsfähigen Triphenylmethanfarbstoff, welcher „neurotrope“ Eigenschaften besitzt, der eine ziemlich starke Säure ist, konnte ich Störungen nicht nur im Zentralnervensystem, sondern, durch das Zirkulieren der „Elektroskope“, den Effekt des sauren Indikators, dessen Adsorption an verschiedene Zellelemente des Zentralnervensystems, dann an die Zellen verschiedener Organe, Leber, Milz, Pankreas, Niere, Magen, Darm-schleimhaut usw. studieren (auf diese Themen möchte ich in späteren Mitteilungen eingehen) im Tierexperiment beobachten.

Es ist nun eine weitführende theoretisch ungelöste Frage, ob wir mit den Triphenylmethanfarbstoffen die elektrischen Spannungen in den Geweben messen können oder nicht, nach meiner Meinung ja, auf diese Frage will ich hier nicht eingehen.

Nach *Hantzsch* sind in einer Lösung der Triphenylmethanfarbstoffe 3 Körper im dynamischen Gleichgewicht: das Farbstoffion, die undissoziierte quaternäre Farbbase und das isomere Carbinol, freie undissoziierte Ammoniumverbindungen sind sehr labil (z. B. das hypothetische NH_4OH). Wird durch Verminderung der H-Ionen die Dissoziation des Farbstoffes zurückgedrängt, so entsteht die labile Farbbase, die aber bald in das stabile Carbinol übergeht, die Lösung wird allmählich entfärbt.

Ein System ist bestrebt, die Wirkung eines äußeren Zwanges möglichst durch Konzentrationsänderung seiner Bestandteile wettzumachen.

Bei Erhöhung des p_{H} muß entweder eine Base aus der Lösung verschwinden oder eine neue Säure in ihr entstehen. Quaternäre Ammoniumverbindungen gehören zu den stärksten Basen, dagegen sind Alkohole, besonders diejenigen, bei denen die H-Atome durch negative Radikale, wie z. B. Azyreste substituiert sind, immer nur von saurer Natur. Lagert sich die Farbbase in das Carbinol, also eine starke Base in eine schwache Säure um, so wird die Wirkung des äußeren Zwanges, Erhöhung des p_{H} vermindert. Erniedrigung des p_{H} hat selbstverständlich die entgegengesetzte Wirkung.

Ich konnte hier zeigen, daß wir im Methylblau A-J einen Farbstoff besitzen, mit dem wir Modellversuche anstellen können und mit

dem wir den ganzen Verlauf einer Stoffwechselstörung, deren Folgen in Symptomen der Erregung, Krämpfen und Bewußtlosigkeit, Schlaf, als Erscheinungen, die durch die elektrostatische Adsorption und Abstoßung von Molekülen eines kreisenden Indikators verursacht wurden, im Tierversuch hervorrufen können.

Während meiner Versuche mit elektropen, verschieden dispersen Farbstoffen der Triphenylmethanreihe, die den Zweck hatten, die Farbstoffverteilung im lebenden Tier (Kaninchen, Katzen, Hunde) nach intravenöser und intraarterieller Einverleibung zu beobachten, *wobei mich ganz besonders die Anfärbung des gesamten Nervensystems interessierte, ist es mir schon gleich bei den ersten Versuchen aufgefallen, daß verschiedene psychische Alterationen der Tiere vorkommen können.* Ich richtete mein Augenmerk nun nicht nur darauf und die Experimente wurden nicht nur darauf abgezielt, *eine vollkommene, intensive Anfärbung des Zentralnervensystems zu erreichen und das Optimum, den sich zur Lebendfärbung am besten eignenden tautomeren Farbstoff herauszufinden, sondern ich beabsichtigte, die Beziehungen zwischen den Farbstoffwirkungen und zwischen Verteilung der Triphenylmethanfarbstoffe, den Zusammenhang der chemischen Konstitution der physikalischen Eigenschaften der Farbstoffe mit der Verteilungsweise der verschiedenen tautomeren Farbstoffe im lebenden Organismus, insbesondere im Zentralnervensystem festzustellen, denn ich kann behaupten, auf Grund meiner groß angelegten Versuche, daß die tautomeren Farbstoffe, die ich zu meinen Versuchen verwendet hatte, Erscheinungen der psychisch motorischen Erregung und Lähmung, gewisse Verbindungen in größeren Mengen intravenös verabfolgt Krämpfe und Lähmung, Betäubung, Schlaf, Mattigkeit usw. regelmäßig verursachten. Es konnte gezeigt werden, daß gewisse Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution des Farbstoffes, deren physikalischer Eigenart, dann auch zwischen Dispersitätsfaktor und „Narkose“-wirkung respektive der psychomotorischen Erregung und Krampfwirkung bestehen. Ich habe auch die Mengenverhältnisse und die Art der Quantenverteilung für Farbstofflösungen, für die verschiedenen Farbstoffe einzeln festgelegt, sofort auch die Verteilung des Farbstoffes, die Zeit der elektrostatischen Adsorption der Farbstoffe zu den Ganglienzellen und Gliazellen im Plexus chorioideus in den verschiedenen älteren Zentren des Zentralnervensystems festgestellt.*

Dadurch gewannen diese Experimente mit tautomeren Triphenylmethanfarbstoffen eine größere biologische Basis und Bedeutung und haben nicht oberflächliche scheinbare Beziehungen mit pathologischen Problemen, so der Erregung und Lähmung, jedoch auch zu den Problemen des Krampfes, insbesondere zur Frage der Pathogenese der Epilepsie und so zu den Problemen nicht nur des epileptiformen Krampfes, der Tetanie als einer Erkrankung, bei der anscheinend die Alkalose

und insbesondere die Kolloidplasmalabilität und deren Störungen eine größere Rolle spielen.

Da O. Foerster zeigen konnte, daß der „genuine“ epileptische Anfall durch *Hyperventilation* bei einer großen Gruppe von Epileptikern zu beliebiger Zeit hervorzurufen möglich ist, wurde die Auffassung von O. Foerster, Freudenberg, György, Frank Nothmann, Gollwitzer auch noch dadurch gestützt, daß eben bei diesen Epileptikern, bei denen nach 10 Min. langer *Hyperventilation* auch ein *Tetaniekrampf der Handmuskeln*, dann aber *Erhöhung der galvanischen Übererregbarkeit feststellbar ist*; hinwiederum konnte Georgi unabhängig von Bigwood die Ähnlichkeit der humoralen Vorgänge, Syndrome zwischen Epilepsie und Tetanie feststellen.

Es konnte aber schon eine *proteinogene*, mit der *Vermehrung der labilsten Globuline* einhergehende, und eine *rein ionogene*, nur *strukturell veränderte Kolloidstabilität* des Plasmas festgestellt werden. Die ionogene Labilitätsstörung wird durch Störungen im Ionengleichgewicht ohne Eiweißvermehrung bedingt, hierfür würde sprechen, daß bei der *Hyperventilation* und im epileptischen Anfall der Status der Alkalose eintritt. Die *Hyperventilationsepilepsie* ist leichter auslösbar nach reichlichen Speisen, bei welcher Gelegenheit eine leichte alkalotische Verschiebung eintritt; nach Hungern sistieren oder verschwinden die epileptischen Krämpfe.

Es ist nach Georgi fraglich, ob man der plötzlichen Ionenverschiebung oder — mehr in rein mechanischem Sinne — der aus ihr resultierenden Dispersitätsveränderung oder beiden Komponenten gemeinsam die Reizwirkung und damit die Auslösung des epileptischen Anfalles zuschreiben kann.

Bei der Entscheidung dieser Frage werden wir uns auf die modernen Anschauungen über den Begriff der Erregung (Höber, Bethe) stützen dürfen.

„Die Änderung der Ionenkonzentrationen durch *Hyperventilation*, innersekretorische Störung, elektrische Reizung führt zu *Liquorveränderungen* und zu einer *reversiblen Steigerung der Permeabilität der Meningen, des Plexus und der Nervenzellmembranen*.“

„Man kann die reversible kolloidale Membranveränderung (Permeabilitätssteigerung an der pathologischen Zelle selbst und die gleichzeitigen ionogenen Kolloidstabilitätsstörungen der nächsten Umgebung auch bei der Auslösung des epileptischen Anfalles als die unmittelbaren Erregungsfaktoren ansehen.

Die Untersuchungen über den Krampf liegen auf dem Gebiete der *physikalischen Chemie* und der *Zusammenfassung* verschiedener Forschungszweige: Biochemie, pathologische Anatomie, experimentelle Medizin und Pathologie.“

So glaube ich eben, in die Frage der Epilepsie, der Frage der Erregung und Lähmung und der Krämpfe durch meine Tierversuche, die ich mit der Verwendung einer großen Gruppe von tautomeren Triphenylmethanfarbstoffen — die wir nach Karczag als im Organismus zirkulierende elektroskopartig sich verhaltende Verbindungen betrachten können, welche aber außerdem ausgezeichnete Indikatoren sind, mit denen wir imstande sind, das Vorzeichen und die Größe der das Molekül umgebenden in lösenden, umgebenden Flüssigkeiten vorhandenen Elektrizität abzumessen und zu bestimmen — eingreifen zu können und eine Seite der Pathologie und die der Pathogenese der Krämpfe und der nachfolgenden Betäubung vom physikalisch-chemischen Standpunkte aus beleuchten zu können.

„Wir wissen“ — schrieb *de Crinis* —, „daß die Tätigkeit bestimmter Zellgruppen des Nervensystems durch die Körpersäfte reguliert wird und daß vor allem das Blut den Zellen Reize zuführt, durch welche sie dann erregt werden. So reguliert das Säure-Basengleichgewicht des Blutes bzw. die Änderung desselben die Atmung durch Erregung des Atmungszentrums, so werden durch Blutreize die Stoffwechselzentren des Gehirns und damit die Zentren, die die Wärmeregulation und den Grundumsatz überwachen, beeinflußt. Allgemein gesprochen nimmt das Zentralnervensystem ununterbrochen Reize aus dem Blute auf und stellt die vegetativen Funktionen auf zentrifugalen Bahnen danach ein. Bemerkenswert ist, daß die Regulierung der vegetativen Funktionen nicht nur auf direkt nervösem Wege, sondern auch auf humoralem Umwege erfolgen kann. Z. B. ist die Wirkung des Zuckerstiches die, daß die Erregung des Zuckerzentrums zunächst auf nervösen Bahnen zur Nebenniere fortgeleitet wird, dort zur Adrenalinausschüttung in das Blut Anlaß gibt und diese humorale Veränderung durch die Adrenalinvermehrung in der Leber zur Mobilisierung des Glykogens führt.

Dem Nervensystem stehen zur Aufnahme von Reizen aus der vegetativen Sphäre zwei Möglichkeiten zur Verfügung, die direkte auf nervösem und die indirekte auf humoralem Wege und ebenso erteilt das Zentralnervensystem auf zweifachem Wege Impulse, direkte auf nervösen Bahnen und indirekte durch Mobilisierung humoraler Wirkungen. Von der Aufnahme von Reizen und ihrer Verarbeitung bzw. Einregulierung der vegetativen Funktionen hängt also der physiologische oder pathologische Ablauf der am Organismus in Erscheinung tretenden Funktionen ab, die in ihrer Summe den Gesamtstoffwechsel ausmachen. Ein pathologisch ablaufender Stoffwechsel aber wird durch seine toxischen Produkte die Zellen schädigen und deren Funktionen seinerseits wieder abändern, und so ergibt sich aus der Einwirkung des Zentralnervensystems auf den Stoffwechsel und dessen Rückwirkung auf

dasselbe das physiologische oder pathologische Geschehen im Zusammenwirken der Teile des Organismus.

Der Chemismus der Körpersäfte ist also für das Zelleben ausschlaggebend.

Der wichtigste „Körpersaft“, das Blut, bestimmt das Leben der Zellstruktur, mehr oder minder die chemischen Eigenschaften der übrigen Körpersäfte, und es ist klar, daß die Wechselbeziehung Blut-Zentralnervensystem von größter Bedeutung ist. Die komplizierte und vielfach ungeklärte chemische Zusammensetzung des Blutes gibt eine ungeahnte Vielheit von Problemen, die der Lösung zugeführt werden müssen. Ich möchte im nachfolgenden nur auf eine physikalisch-chemische Eigenschaft des Blutes und deren Veränderung eingehen und ihren Einfluß auf das Zelleben einem Studium unterziehen. Es ist dies die physikalisch-chemische Reaktion des Blutes hinsichtlich seines Säure-Basengleichgewichtes.

Die Beurteilung des Säuregehalt des Blutes hat in letzter Zeit einen wesentlichen Fortschritt gemacht und ihr Einfluß auf das physiologische Geschehen, vor allem die Atmung, ist durch die Untersuchungen von *Henderson*, *Hasselbalch* und *Winterstein* studiert worden.

Auf humoralem Wege, durch das Blut, wird das Atemzentrum in Erregung gesetzt, wobei die Kohlensäure nicht als Moleküle, sondern im ionisierten Zustande als Säure einwirkt und die Sauerstoffverarmung nicht direkt, sondern indirekt durch Anhäufung saurer Stoffwechselprodukte erregend wirkt. Und zwar sind es die Wasserstoffionen, die den besonderen Atemreiz bilden, deren Konzentration gleichmäßig gewahrt werden muß, um das Atemzentrum bei gleicher Funktion zu erhalten. Der Organismus ist aber durch die Stoffwechselprodukte fortwährend der Gefahr der Ansäuerung und damit der Veränderung der H-Ionenkonzentration ausgesetzt und verfügt über verschiedene Möglichkeiten, die Anreicherung von Säuren im Blute (Acidose) hintanzuhalten.

Die Abgabe der flüchtigen Kohlensäure wird durch die Atmung geregelt und die nicht flüchtigen Säuren werden durch die Nierentätigkeit, Magensekretion und Schweißbildung ausgeschieden. Genau so wie durch das Atemzentrum die Ventilationsgröße und damit die Kohlensäureabgabe reguliert wird, beherrschen andere Zentren die Tätigkeit der Nieren, Magensaftsekretion und Schweißausscheidung und werden durch Blutreize für diese Tätigkeit in Erregung gesetzt.

Wir sehen also, daß die Blutzusammensetzung durch eine ganz wunderbare Kontrolle des Zentralnervensystems garantiert wird.

Aber auch das Blut selbst setzt jeder H-Ionenkonzentrationsänderung Schranken durch seine Puffersubstanzen. Solche Pufferkörper des Blutes sind vor allem die Natriumphosphatsalze, und zwar das primäre

und sekundäre Phosphat und die Eiweißkörper, die bekanntlich Säure und basische Valenzen binden können. Strömen daher Säuren in das Blut ein, so werden wir zunächst keine Änderung in der H-Ionenkonzentration finden, da die Säuren bis zu einem bestimmten Grade vollkommen ausgepuffert werden. Wohl aber wird die Alkaleszenz erschöpft und die Aufnahmefähigkeit des Blutes für andere Säuren, z. B. CO_2 , wird dadurch herabgesetzt. Neuere Methoden haben auch dieses Bindungsvermögen für Kohlensäure herangezogen, um die Anwesenheit und Vermehrung von Säuren im Blute festzustellen. Hat also das Blut Säuren aufgenommen, so werden die Säuren aufgepuffert, daher die H-Ionenkonzentration nicht verändert, wohl aber wird durch die Bindung der Alkalireserven das Kohlensäurebindungsvermögen abnehmen; je mehr Säuren vom Blute aufgenommen worden sind, desto geringer ist also das Kohlensäurebindungsvermögen, und so ist das Kohlensäurebindungsvermögen zum Maßstabe der Acidität des Blutes geworden.

Wir werden also von einer Acidose des Blutes schon sprechen können, wenn die H-Ionenkonzentration noch keine Abweichung von der Norm aufweist, wohl aber das Kohlensäurebindungsvermögen herabgesetzt ist.

Es ist nun für die Zellen und ihre Tätigkeit nicht gleichgültig, ob sie von einem Blute gespeist werden, dessen saure Valenzen vermehrt und dessen Kohlensäurebindungsvermögen herabgesetzt ist. Aus dem Tierexperiment *Chvosteks* wissen wir, daß es beim säurevergifteten Tiere zu einer Abnahme der Oxydationen und einer Kohlensäureretention in den Geweben kommt. Die Ansäuerung des Blutes hat also einen weitgehenden Einfluß auf den Zellstoffwechsel.

Es ist naheliegend, anzunehmen, daß mit der Veränderung des Zellstoffwechsels auch eine Änderung in der Zellfunktion eintritt. Tatsächlich konnte auch *Elias* in einer umfassenden Arbeit die Abänderung der elektrischen Reizfähigkeit des Zentralnervensystems beim säurevergifteten Tiere experimentell nachweisen. Durch die Säurevergiftung war also der Stoffwechsel und Chemismus der Zellen so verändert worden, daß das Zentralnervensystem auf geringere elektrische Reize ansprach als vor der Säurevergiftung. Dieses Ergebnis führt also zu der Annahme einer materiellen Schädigung der Zelle und damit Veränderung des Zellchemismus des Zentralnervensystems.

Wenn wir bei der Acidose, die mit nervösen Reaktionserscheinungen einhergeht, materielle Veränderungen in den Nervenzellen annehmen, so ergibt sich die Frage, ob diese materiellen Veränderungen nicht auch histologisch nachgewiesen werden können.

Aus der menschlichen Pathologie sind uns verschiedene Zustände bekannt, bei denen Acidose vorliegt und die mit nervösen Erscheinungen einhergehen. Hierher gehört vor allem das Coma diabeticum. Wir kennen aber auch andere Erkrankungen des Zentralnervensystems,

bei denen das Säure-Basengleichgewicht weitgehende Schwankungen nach dem Säuregehalt hin aufweist und bei denen die Zunahme der sauren Valenzen für den Stoffwechsel und das Zustandekommen des Krankheitsbildes von Bedeutung werden. Es ist dies der epileptische und eklamptische Symptomenkomplex. Während bei diesen letzteren beiden Krankheitszuständen die histologischen Veränderungen studiert sind, sind uns histologische Befunde bei Diabetes und dem Coma diabeticum, welche für eine Erkrankung des Zentralnervensystems diffuser Art sprechen würden, noch nicht mitgeteilt worden.

Methodik der Farbstoffexperimente.

Die Methodik der Farbstoffexperimente war folgende: Ich habe 2—2 $\frac{1}{2}$ proz. wässrige, 2—4mal filtrierte, im Wasserbade 2 Stunden lang sterilisierte Lösungen der Triphenylmethanfarbstoffe: Fuchsin S, *Methylblau* (Original-Methylblau) A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, *Säure-rotviolett*, Magentarot, *Methylviolett* für intravenöse Injektionen und auch für intraarterielle Injektionen gebraucht. Es wurden immer frische Lösungen hergestellt, denn die älteren Lösungen sind viel giftiger. Methylblau verursacht subcutan verabfolgt Nekrose des Unterhautzellfettgewebes, so arbeitete ich nur intravenös und intraarteriell (in die Richtung des Kreislaufs). Kaninchen wurden die Farbstofflösungen in die Ohrvene sehr langsam mit einer Rekordspritze verabfolgt. Es wurden Versuche gemacht, direkt in die Arterien des Ohres, dann in die Art. femoralis die Farbstoffe einzuspritzen, die Tiere reagieren nach Einspritzen von 2—4—5 ccm 2 $\frac{1}{2}$ proz. Farbstofflösung des Methylblau A-J mit sofortigen, sehr heftigen tonisch-klonischen Krämpfen. Insbesondere das *Methylblau Original*, das *weniger sulfoniert und mittelmäßig dispers* ist, verursacht in minimalsten Mengen Krämpfe. Epilepsieartige Krämpfe kann man mit den *Methylblaufarbstoffen* A, F, G, I, J, C, wenn man sie intravenös in größeren Mengen einspritzt, auch erzeugen, die Krämpfe entwickeln sich nach einer einige Minuten dauernden Benommenheit sofort, darauf beobachtbare *Unruhe, Zittern, Ziehen der Beine, Kraftlosigkeit der Hinterbeine*, dann beginnen die heftigen Krämpfe, die aber nie diese exzessive Heftigkeit und Stärke erreichen, wie bei den arteriellen Versuchen. Ich habe auch Experimente mit Kombination der beiden Arten der Verabreichung, intravenös und intraarteriell, in großer Zahl ausgeführt.

Um die bei den Farbstoffversuchen entstehenden *psychomotorischen Reaktionen* scharf zu beobachten, habe ich nach zahlreichen Kaninchenversuchen eine große Zahl Hunde, später aber die zu den Versuchen sich nach meiner Ansicht noch besser eignenden Katzen verwendet. Auch mußte darauf geachtet werden, daß man zur intraarteriellen und intravenösen Einspritzung der Farbstoffe nicht nur die Ohrvenen und

Arterien benutzt, denn in erster Reihe muß man bei dieser Art des Verfahrens sofort mit den Veränderungen der Zirkulation und Druckverhältnisse im Labyrinth rechnen; eben von diesem gewichtigen Standpunkt aus habe ich Versuche angestellt und die Farbstofflösungen Methylblau Original, Methylblau A—J Kaninchen und Katzen in die Vene des hinteren Beines oder in die Arterie des Hinterbeines eingespritzt (immer in der Richtung der Zirkulation). Auch dann, wenn die Farbstoffe in die Vena femoralis oder in die Arteria femoralis eingespritzt wurden, konnte ich folgende prinzipielle Tatsachen konstatieren:

Es entstehen in einigen Sekunden sehr heftige epilepsieartige Krämpfe der Extremitäten mit Drehung des Kopfes in die entgegengesetzte Seite, in die die Farbstofflösung verabfolgt wurde. Die kleinsten Mengen, die Krämpfe verursachen, braucht man von dem Methylblau Original; dieser Farbstoff ist sehr wenig sulfoniert und ist sehr dispers. Die Farbstoffe Methylblau A, F sind stärker sulfoniert, und aus einer 2½proz. wässerigen Lösung verursachen intraarteriell 4—10 ccm auf 1000 g Tier epileptiforme Krämpfe.

Methylblau B, C, D, E, G, H, I, J sind wieder viel disperser, mit diesen Triphenylmethanen kann man mit 3—6 ccm intraarteriell verabfolgt heftigste Krämpfe der Extremitäten mit Kopfwendung in die entgegengesetzte Seite (rechte Arteria femoralis — *Linksdrehen* des Kopfes) verursachen.

Intravenös verursachen die Verbindungen *Methylblau Original, Methylblau A—J Grüber* nur in viel größeren Mengen Krämpfe.

Methylblau Original 2½proz. wässrige Lösung 10 ccm auf 1 kg Tier.

Methylblau A und F, C 80—140 ccm intravenös auf 4 kg Tier, d. i. 20—40 ccm auf 1 kg Tier.

Von Methylblau B, D, E, G, H, I, J verursachen viel geringere Mengen Krämpfe, so z. B. aus Methylblau G 15 ccm auf 1 kg Tier, von Methylblau D, E, H, I, J 12, 14, 11, 9, 8 ccm.

Sehr wichtig ist folgende Tatsache, die ich während der intravenösen Krämpfe beobachten konnte. Die Krämpfe nach intravenösen Injektionen von Methylblau A—J entstehen nicht sofort, erst kann man eine kurze Zeit, 5—10—15 Minuten dauernde, verschieden tiefe Benommenheit, dann eine kurze Zeit dauernde Unruhe der Tiere beobachten, dann entstehen die Streckkrämpfe, mit heftigen Zuckungen, dann wiederum wird das Tier schläfrig, matt, der Tonus der Muskeln erschlafft und es kann bei sehr großen Dosen der Tod eintreten.

Benutzen wir größere Dosen zu intraarteriellen Versuchen, so tritt der Tod im Krampfanfall ein; dies geschieht nie bei intraarteriellen Versuchen.

Es ist meines Erachtens der Verlauf der Symptome nach den intravenösen und intraarteriellen Farbstoffinjektionen: 1. Benommenheit,

2. Erregung, 3. Krampf, 4. Betäubung, 5. evtl. Tod, der Symptomatologie des epileptiformen Anfalles, dem Verlauf der *genuinen* Epilepsie sehr ähnlich, völlig gleich. Wir kennen verschiedene epileptiforme Krampfanfälle, solche, die mit „Aura“ eingeleitet werden, kleine und größere Anfälle. Es sind Anfälle bekannt, die ohne Aura mit Bewußtseinsverlust und heftigen Krämpfen einhergehen,; dieser letztere Typus des Anfalles, dessen Verlauf durch *heftigste Krämpfe, durch Bewußtseinsverlust*, Schlaf, Müdigkeit, Benommensein charakterisiert ist, wurde durch meine intraarteriellen Versuche, im Modell vorgeführt, herbeigeführt.

Die intravenösen Farbstoffexperimente mit Triphenylmethanfarbstoffen führen uns die Genese des Krampfanfalles im Modellversuch die andere Gruppe von Anfällen vor Augen, die wir aus reichem Beobachtungsmaterial der „genuinen“ Epileptiker kennen, für welchen Typus der Anfälle, die aus unbekannter Ursache entstehende Betäubung, Schlaflosigkeit, Ermattung, Erschlaffung, weiterhin ein gewisses Schwindelgefühl bezeichnend ist, worauf Unruhe und dann erst der Krampfanfall folgt mit Bewußtlosigkeit, nach Ablauf der Krämpfe tritt die Bewußtlosigkeit und der Schlaf ein.

Wie oben erwähnt, wurden die Experimente an Katzen und Kaninchen, mit *verschieden* dispersen, verschieden giftigen Triphenylmethanfarbstoffen, sowohl mit sauren wie alkalischen Farbstoffen durchgeführt. *Je gröber dispers* die Farbstoffe sind, desto kleinere Mengen verursachen Krämpfe, weniger disperse Farbstofflösungen verursachen in viel größeren Mengen derselben Konzentration Krämpfe, Erregung und Lähmungserscheinungen.

Auch spielt die chemische Konstitution eine gewisse Rolle bei der Hervorrufung psychomotorischer Symptome. Eine ganz besonders hervorragende Rolle spielt in diesen Versuchen die *anscheinend neurotrope Eigenschaft des Methylblaus*. Dies habe ich wieder erfahren bei der Anwendung von Magentarot, Fuchsin, Fuchsin S, Methylblau Original, Methylblau A—J, Lichtgrün, Wasserblau, Säurerotviolett, Methylviolett, Erythrosin, Eosin.

Magentarot und Fuchsin sind sehr giftig, $\frac{1}{10}$ ccm einer $2\frac{1}{2}$ proz. Lösung wirkt tödend, oben wurde auf die verschieden heftige und starke Wirkungsweise des *Methylblaus Original* und der *stark sulfonierten Methylblaufarbstoffe A—J* hingewiesen.

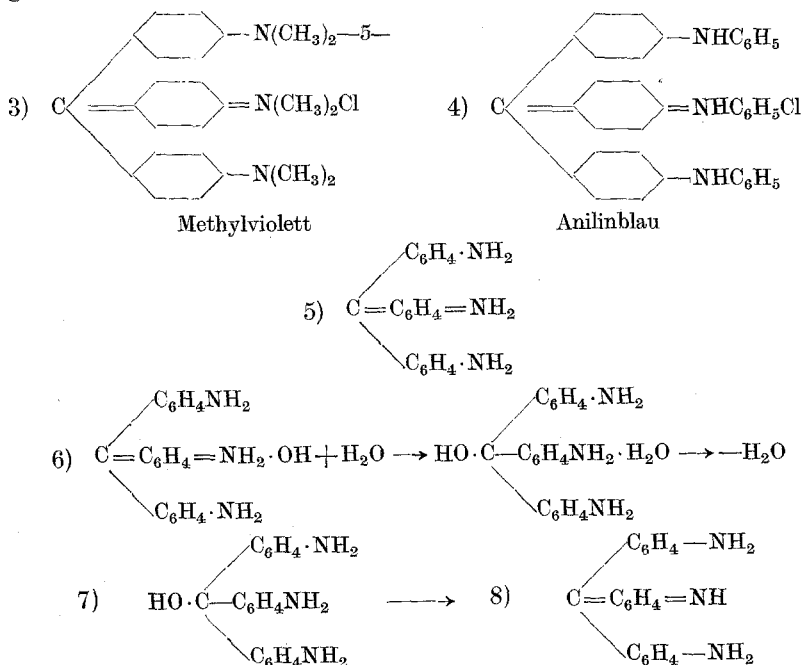
Über die Di- und Triphenylmethanfarbstoffe.

Stammen vom Di- oder Triphenylmethan ab, anstatt der Phenylreste können Toly, Xylyl oder Naphtylreste im Farbstoffmol. enthalten sein, daher kann man in allgemeiner Beziehung Di- und Triarylmethanfarbstoffe benutzen.

bis violetterm Ton, der allerdings durch Alkyl, Aralkyl und Arylreste nach *Blauviolett* (3) und *Blau* (4) modifiziert werden kann. Malachitgrün (1) ist äußerst giftig, $\frac{1}{10}$ ccm einer $2\frac{1}{2}$ proz. wässrigen Lösung tötet in einigen Sekunden ein großes Kaninchen.

Die Farbbasen.

Die Farbstoffe sind, soweit sie nicht Sulfogruppen enthalten, in der Regel (es sind Ausnahmen) *Salze* schwacher Basen, die durch Alkali leicht zerlegt werden, im Gegensatz zu den stark basischen *Acinen*. Dabei entstehen zunächst, als sehr labile *Zwischenprodukte*, *Ammoniumbasen*; aus *Parafuchsin* z. B. erhält man die Ammoniumbase, die durch Anlagerung oder richtiger vielleicht durch Anlagerung und Abspaltung von Wasser in die entsprechenden *farblosen* Carbinolbasen und durch weitere Wasserabspaltung wieder in die roten *Fuchsoniminbasen* übergehen.

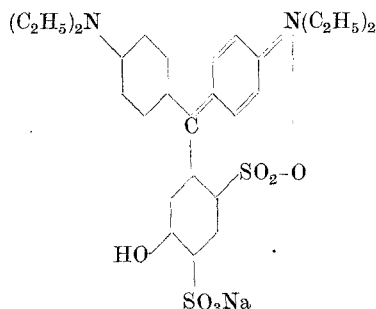


In den *Carbinolbasen* ist durch die oben erwähnten Reaktionen, wobei schließlich die Hydroxylgruppe vom Stickstoff an den Methan-kohlenstoff wandert, die *chinoide* Bindung in eine gewöhnliche benzoide Bindung übergegangen und damit der *Farbstoffcharakter* geschwunden. Die roten *Fuchsoniminbasen* (8) hingegen haben den *chinoiden* Charakter bewahrt, gehen aber durch Aufnahme von Wasser leicht wieder in die farblosen *Carbinolbasen* (7) über.

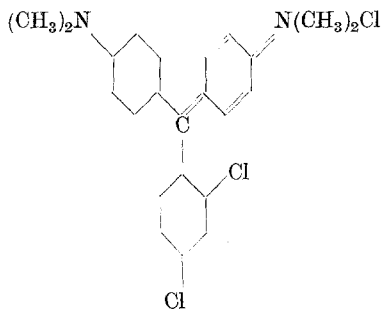
Mit der geringen Basizität der den Triphenylmethanfarbstoffen zugrunde liegenden Farbbasen und ihrem Übergang in die *farblosen* Carbinolbasen hängt ein sehr wesentlicher Fehler der meisten Triphenylmethanfarbstoffe zusammen, ihre *Empfindlichkeit gegen Alkali*, die sich selbst auf der Faser darin zeigt, daß derartige Färbungen unter der Einwirkung von Alkali (*Soda* oder *Kalk*) farblos werden.

Es hat sich dann später gezeigt daß der eben gerügte Fehler ganz oder zum Teil behoben werden kann durch Einführung saurer Gruppen, vor allem von *Sulfogruppen* oder *Halogenen* in die 0-Stellung zum Methankohlenstoff.

Z. B. *Patentblau*, das Calcium oder Natriumsalz der m-Oxytetraäthyl-p-Aminofuchsoniumdisulfonsäure, wobei vielleicht eine innere Salzbildung zwischen der Ammonium- und einer Sulfogruppe angenommen werden darf.



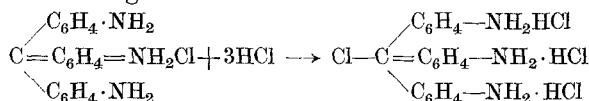
Patentblau V



Neusolidgrün 2B

Das Verhalten der Triarylmethanfarbstoffe gegen starke Säuren ist derartig, daß bei gleichzeitiger Verschiebung des Farbtones Salze mit 2 oder 3 Äquivalenten Säure, deren Farbintensität gegenüber derjenigen des normalen einsäurigen Salzes sehr erheblich abgenommen hat, es tritt in vielen Fällen völlige Entfärbung auf, die meist mit einer an den Aminogruppen sich vollziehenden Salzbildung in Zusammenhang gebracht wird.

Richtiger dürfte wohl die Annahme eines Übergangs der *chinoiden* in die *benzoide* Konfiguration sein.



Abgesehen von den auxochromen Gruppen bestehen die Triphenylmethanfarbstoffe aus 4 Bestandteilen, *drei Arylresten und dem Methankohlenstoff*. Die Vereinigung der 4 Bestandteile zum Farbstoff kann geschehen 1. aus 4 getrennten Bestandteilen, daß auch der Methankohlenstoff von einer selbständigen Komponente (Formaldehyd, Phosgen, Oxalsäure) geliefert wird.

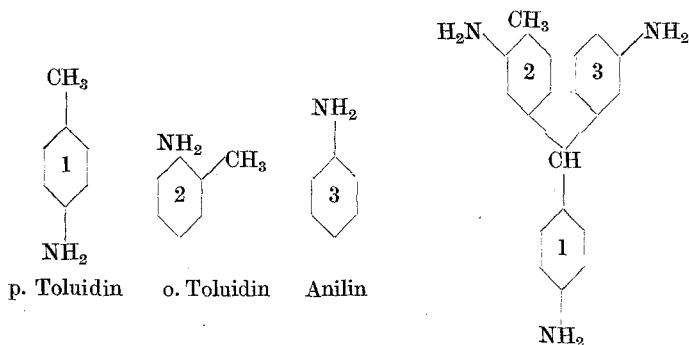
2. Aus 2 Mol. Arylverbindung, von denen das eine gleichzeitig den Methankohlenstoff liefert, sei es, daß dieser Methankohlenstoff im Kern des Arylrestes enthalten ist (p-Toluidin, p-Amidobenzylalkohol, p-Aminobenzaldehyd, p-Aminobenzoesäure) der Methankohlenstoff einer Alkyl der Aminogruppe entnommen wird (Dimethylanilin, Methylviolett).

3. Die Farbstoffe kann man aus 2 Komponenten aufbauen, von denen die eine zwei Arylreste und den Methankohlenstoff, die andere den dritten Arylrest enthält.

Man kann die Farbstoffe durch oxydative Kondensation und reine Kondensation synthetisch herstellen.

Fuchsin synthese mit p-Toluidin.

1 Mol. p-Toluidin, 1 Mol. o-Toluidin, 1 Mol. Anilin; es entsteht Tri-p-Aminophenyltolylmethan, welches durch weitere Oxydation in den Farbstoff selbst übergeht.

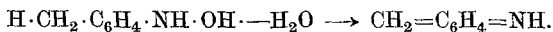


Triaminodiphenyltolylmethan = Leukobase

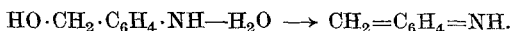
Bei der Oxydation des p-Toluidins entsteht ein dem Chinondiimin analoger methylenchinoniminartiger Körper. Dieser Körper entsteht aus p-Tolylhydroxylamin.



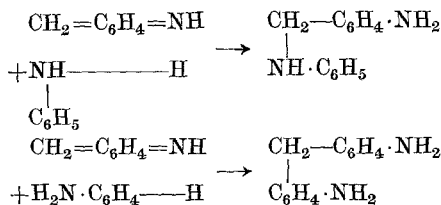
Methylenchinonimin



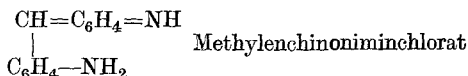
Andererseits aus p-Aminobenzylalkohol



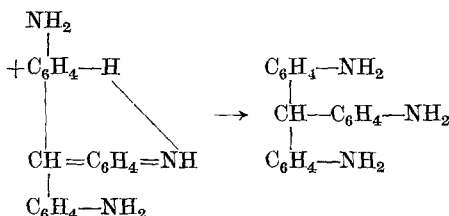
Weil es ungesättigt ist, ist es zur Anlagerung fähig, und unter der Einwirkung einer Mischung von Anilin und salzsaurem Anilin, mit der Zwischenphase p-Aminobenzylanilin oder unmittelbar in das Diaminodiphenylmethan über.



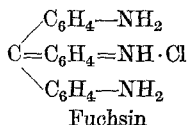
Dieses geht in das Triaminotriphenylmethan über.



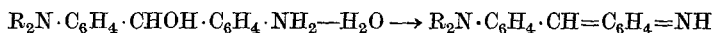
welches 2 Atome wasserstoffärmer; darauf lagert sich ein zweites Mol. Anilin oder O-Toluidin.



Nach der dritten Oxydation in Gegenwart von Salzsäure entsteht wiederum ein Methylenchinonimin des Fuchsin:



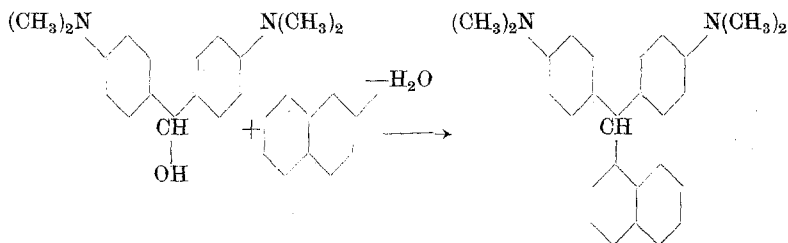
Ersetzt man in der eben geschilderten Fuchsin synthese das p-Toluidin, das, wie man ja in seiner Methylgruppe das Methankohlenstoffatom liefert, durch p-Aminobenzylalkohol und seine Derivate, so hat die Synthese einen ganz analogen Verlauf mit dem einzigen Unterschiede, daß zur Farbstoffbildung ein Sauerstoffatom weniger erforderlich ist. Ersetzt man weiterhin das p-Toluidin durch p-Aminobenzaldehyd oder seine Derivate, so gilt ähnliches wie vorhin für den p-Aminobenzylalkohol. Durch Kondensation entsteht von p-Aminobenzaldehyd mit Aminen unter geeigneten Bedingungen ein Derivat des *Benzhydrols* $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{C}_6\text{H}_5$; dieses spaltet Wasser ab:



und es entsteht ein Methylenchinonimin. Aus dem Diaminodiphenylmethan kann durch Oxydation, wie oben gezeigt, Methylenchinonimin erzeugt werden.

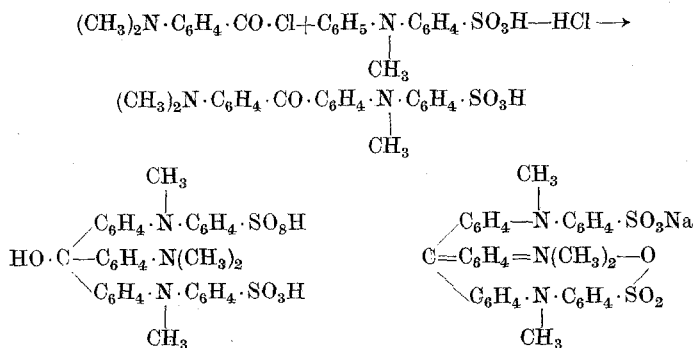
Die substituierten Benzhydrole kann man gegen aromatische Amine und Phenole und aromatische Reste ohne auxochrome Gruppen (Na-

phthalin, Naphthalinsulfosäuren) durch die intermediäre Bildung eines anlagerungsfähigen Methylenchinonimins erklären.



Wenn man das *p*-Toluidin mit der *p*-Aminobenzoessäure und ihre Derivate durch das entsprechende Benzoylchlorid ersetzt, so gestaltet sich die Synthese aus 1 Mol. dieser den Methankohlenstoff liefernden Arylverbindung und 2 Mol. eines aromatischenamins im wesentlichen zwar analog den vorherigen Oxydationssynthesen. Es bedarf aber keiner weiteren Oxydationssynthese, da Benzoessäure und Benzoylchlorid und ihre Derivate hohe Oxydationsstufen der Methankohlenstoffkomponenten sind: *Kondensationssynthese*.

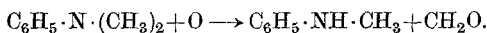
Das *p*-Dimethylaminobenzoylchlorid + 1 Mol. Methyldiphenylaminsulfonsäure ergibt als Zwischenprodukte Trimethylphenyldiaminobenzophenon, Monosulfonsäure und durch Kondensation mit dem zweiten Mol. Methyldiphenylaminsulfonsäure die Tetramethyldiphenyldiaminotriphenylcarbinoldisulfonsäure, deren Mononatriumsalz nach Abspaltung von 1 Mol. Wasser einen Säurefarbstoff, das sog. *Säureviolett 7NB* darstellt. Der Benzolkern ist chinoid konstituiert, der die Dimethylaminogruppe enthält, ist fraglich.



Säureviolett 7NB

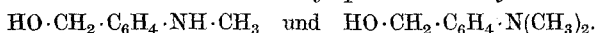
Säureviolett steht in naher Beziehung zu dem *Methylviolett*, dies kann man aus *Dimethylanilin* erhalten; die Methankohlenstoff liefernde *Methylgruppe* wird nicht, wie beim *p*-Toluidin, dem Kern, sondern der Amino-*gruppe* entnommen, durch einen Oxydationsprozeß, durch den eine *Methyl-*

gruppe gleichzeitig vom Stickstoff der Aminogruppe loslösend zu Formaldehyd oxydiert wird.



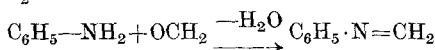
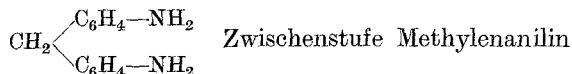
In Gegenwart von HCl greift dieses Aldehyd unter den gegebenen Reaktionsbedingungen vermöge seiner großen Reaktionsfähigkeit als bald in den *Kern* der aromatischen Reste ein; in p-Stellung zur Aminogruppe (Dimethylanilin, Monomethylanilin).

Es entstehen Mono- und Dimethyl-p-Aminobenzylalkohol:

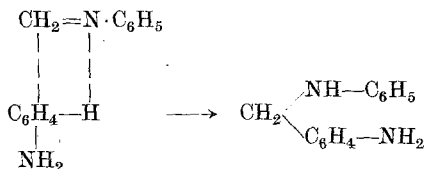


Unter der Wirkung der noch vorhandenen aromatischen Basen gehen obengenannte Verbindungen in Di-, Tri- und Tetramethyldiaminodiphenylmethan über, worauf sich der weitere Übergang der *Diphenylmethankörper* in den Farbstoff in analoger Weise vollzieht wie beim Fuchsin.

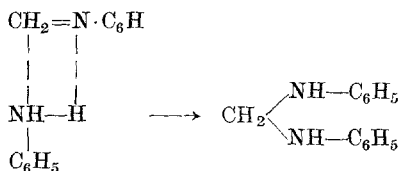
Das *Methylviolett* ist kein einheitlicher Farbstoff, sondern ein Gemisch von *tetra-, penta- und hexamethyliertem Parafuchsin*, entsprechend der Tatsache, daß neben Dimethylanilin auch das beim Oxydationsprozeß entstehende Monomethylanilin als Komponente am Aufbau des Farbstoffmoleküls teilnimmt. Als Oxydationsmittel dienen Cuprisalze in Mischung mit NaCl und in Gegenwart von Phenol, Formaldehyd + 2 Mol. Anilin-Diaminodiphenylmethan



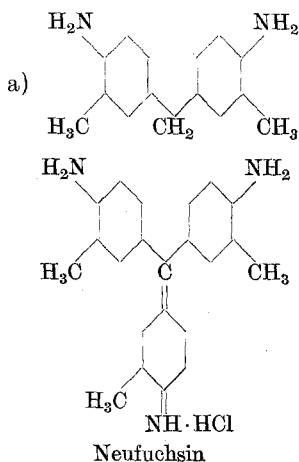
und p-Aminobenzylanilin



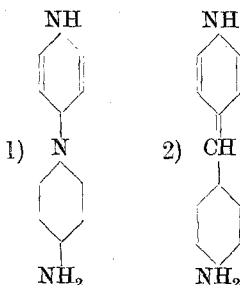
auch über das Diphenylmethyldiamin



Aus 1 Mol. Formaldehyd + 3 Mol. o-Toluidin entsteht die Zwischenphase des *p-Diamino-di-o-Tolylmethans*, ein Homologes des Fuchsin, das sog. Neufuchsin, das in Wasser besser löslich ist.



Als Zwischenprodukte entstehen die *Indaminen* analogen *Amino-* (1) *phenylmethylenchinonimine* (2) entsprechenden *Triaminotriphenylmethane*

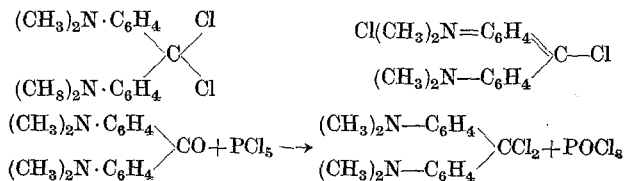


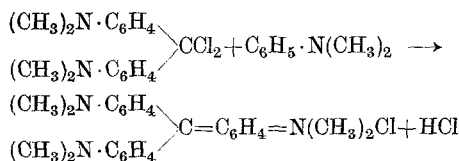
die durch weitere Oxydation Farbstoffe liefern.

Reine Kondensation.

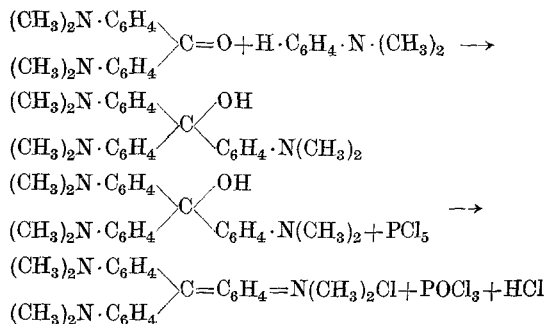
Die Synthese von Krystallviolett geschieht auf Basis reiner Kondensation, es ist das das Chlorhydrat des der *Hexamethyltriaminotriphenylcarbinolbase* entsprechenden *Methylenchinonimins*.

Aus 1 Mol Tetramethyldiaminobenzophenon (*Michlers Keton*) + + 1 Mol. Dimethylanilin. Als Kondensationsmittel dienen Phosphoroxychlorid, Phosphorpentachlorid und andere Säurehaloide. Es entsteht aus *Michler Keton* unter Phosphorchlorid *Dichlormethan* (1)

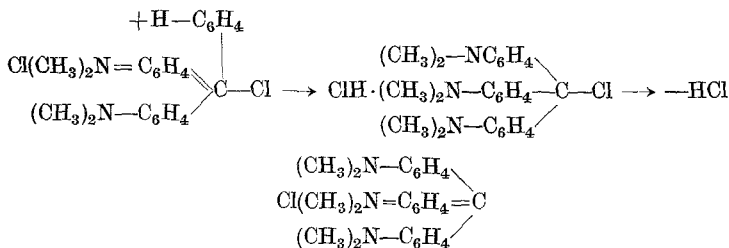




Als Additionsvorgang aufgefaßt.



Als Methylenchinoniminabkömmling aus Tetramethyldiaminodiphenylmethylenchlorid gestaltet sich die *Krystallviolett*synthese folgenderweise:



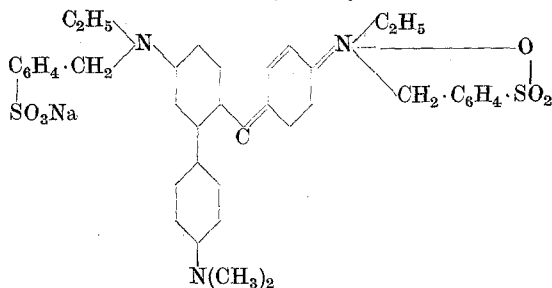
Die Sulfogruppe ist für die Echtheit der Wollfärbungen wichtig. Die Sulfogruppe dient nicht nur zur Löslichmachung des Farbstoffes oder zur Erhöhung der Alkaliechtheit, sondern auch zur Vergrößerung der Affinität des Farbstoffes gegenüber der tierischen Faser.

Gleichzeitig erlangen die basischen Triphenylmethanfarbstoffe durch die Sulfonierung den Charakter von Säurefarbstoffen und lassen sich daher gleichzeitig mit ihnen nach den für diese Farbstoffe üblichen Methoden färben.

Man kann bei der Herstellung von sulfonierten Triarylmethanfarbstoffen auf zweierlei Methoden verfahren: Man sulfoniert den fertigen Farbstoff, die entsprechende *Leukoverbindung*, oder man baut den Farbstoff aus Komponenten auf, die bereits Sulfogruppen enthalten (Säureviolett 7 BN). In der Regel befinden sich die Sulfogruppen nicht in denjenigen aromatischen Resten, die das sog. Skelett des Triarylmethanfarbstoffes ausmachen, sondern in den Aryl- oder Alkaryl-

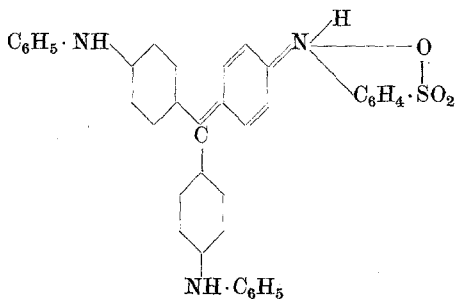
gruppen, die die Wasserstoffe der Aminogruppen vertreten. Insbesondere ist die *Benzylgruppe* durch die leichte Sulfonierbarkeit ihres Benzolkernes ausgezeichnet, und insofern ist diese Gruppe für die Herstellung von *sulfonylierten Triarylmethanfarbstoffen* (Säurefarbstoffen) von technischer Bedeutung.

Das *Säureviolett 6 B* stammt aus den Komponenten *p*-Dimethylamino, Benzaldehyd + 2 Mol Äthylbenzylanilinsulfonsäure



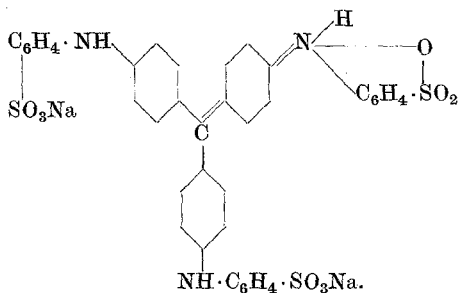
Säureviolett 6 B.

Durch Sulfonierung der *arylierten Fuchsin* erhältliche Farbstoffe haben eine schöne, reinblaue Farbe. Alkaliblau ist die Monosulfonsäure des triphenylierten Para-fuchsin (*n*-Fuchsin).



Alkaliblau

Methylblau ist ein Gemisch von Mono- und Disulfonsäuren des Anilinblaus. Dieser Farbstoff ist sehr neurotrop. Hinwiederum ist das *Wasserblau* ein Gemisch von Di- und Trisulfonsäure



Experimente.

Es wurden einer 2000 g schweren Katze in die Vena cruralis (auspräpariert) 20 cem *Methylblau A*, nach 10 Min. 10 cem *Methylblau A* injiziert. Es entstehen riesige Krämpfe, dann Benommenheit, Schlaf, Bewußtlosigkeit. In Bewußtlosigkeit obduziert.

Gehirnrinde in Formolessigsäure *dunkelblau*. Rückenmarksgrau *dunkelblau*. Spinalganglienzellen dunkelblau. In den Ganglienzellen der Rinde der tiefen Stammganglienzellen, Rückenmarkszellen (motor. Vorderhörner usw.) feinste hellblaue, oft dunkelblaue *Körnchen* (Schnitte 10—20 μ). Gefrierschnitte und Paraffinschnitte.

In den Gefäßen keine größeren Körnchen. Adventitia blaugefärbt.

3500 g schwere Katze. Intravenös (Vena femoralis): 10 cem *Methylblau A*; 10 cem Eosin; 20 cem Eosin; 30 cem *Methylblau A*; 40 cem Eosin; 50 cem *Methylblau A*.

Sehr heftige Krämpfe, Bewußtlosigkeit. Exitus.

Obduktion sofort nach dem Exitus. Bindegewebe ist rosa, rot gefärbt, die Farbe wird in Formolessigsäure sehr intensiv. Gehirnhäute rot, das Gehirn ist farblos, in Formolessigsäure erhalten wir eine intensive dunkelblaue Färbung mit rosaroter Mischung der Farbe. Stammganglien dunkelblau-rosa, Hypophyse schwarzblau, Rückenmarksgrau dunkelblau, Rückenmarksweiß rosarot, Herzbindegewebe blaurot, Muskeln blau, Uterus blau, Magen-Darm-Bindegewebe rot, Muskeln blau.

Mikroskopisch: Ganglienzellen dunkelblau granuliert gefärbt, Kern blau. Gliazellen hell, diffus blau.

4000 g schwere Katze, ♂. Intravenös (Vena femoralis): 10 cem *Methylblau A*; 30 cem *Methylblau A*.

Exitus nach heftigen Krämpfen und Bewußtlosigkeit.

Sofort obduziert: Gehirn farblos, Rückenmark farblos, Spinalganglienzellen farblos. In Formolessigsäure: Gehirnrinde dunkelblau, *Stammganglien dunkelblau*, *Rückenmarksgrau dunkelblau*.

Mikroskopisch: Ganglienzellen im Protoplasma der Zellen dunkelblaue feine Granula.

Rückenmarkszellen mit dunkelblauen Granula beladen. Herzmuskel und -bindegewebe diffus blaugefärbt. Gland.-Submaxillaris: diffus blau. Quergestreifte Muskulatur: blaugefärbt. Hoden: blaugefärbt. Magen: Bindegewebe stark blau gefärbt.

3500 g schwere Katze bekam intravenös: 30 cem *Methylblau A*; 30 cem Fuchsin S; 20 cem *Methylblau F*.

Sehr heftige Krämpfe, dann Schlaf und Bewußtlosigkeit. Um 5 Uhr 40 Min. Exitus. Sofort obduziert.

Gehirn farblos; erst das in Formolessigsäure gebrachte Gehirn und Rückenmark wird farbig regeneriert.

Gehirnrinde: *dunkelblau*. Gehirnmark hellblau. Dura mater und Pia rot. Rückenmarksgrau dunkelblau. Rückenmarksweiß hellrosa. Spinalganglienzellen dunkelblau.

Mikroskopisch: Ganglienzellen der Rinde und Rindenmark granuliert blaugefärbt. Gliazellen diffus blau—hellblau.

Hypophyse dunkelblau.

Herzmuskeln dunkelblau, Bindegewebe hell, diffus blau.

Keine Embolien der Capillaren der Rinde noch der Stammganglien. Adventitien dunkelblau gefärbt.

Katze, 2100 g schwer, erhielt in die Vena femoralis 30 cem *Methylblau A*, nach

15 Min. 10 ccm Methylblau A. Sehr heftige Krämpfe. Tetanusartige Krämpfe auf Berührung. Pupillen sehr enge, verlangsamte Atmung, die Krämpfe dauern 30 Min. lang, Atem frequent. Das Tier erhielt noch 45 Min. später intravenös 20 ccm Methylblau A. Pupillen sehr weit, wiederum heftige Krämpfe von tonisch-klonischem Typus.

Obduktion in Chloroformnarkose 1 Std. 10 Min. nach der ersten Farbstoffmenge.

Gehirn und Rückenmark farblos, aber in Formolessigsäure entstehen folgende intensive Anfärbungen: Gehirnrinde dunkelblau. Rückenmarksgrau blau. Spinalganglienzellen dunkelblau.

In den Ganglienzellen feine blaue dunkle Granula. Gliazellen diffus blau. Adventitia dunkelblau gefärbt.

4000 g schwere Katze erhält intravenös (Vena femoralis) 10 ccm Methylblau A, nach 15 Min. 30 ccm Methylblau A.

Sehr heftige Krämpfe. Tod nach 10 Minuten in bewußtlosem Zustande.

Sofortige Obduktion nach dem Exitus.

Gehirnhäute und Gehirn farblos. In Formolessigsäure regeneriert *Gehirnrinde dunkelblau*, Stammganglien dunkelblau, Rückenmarksgrau dunkelblau. Spinalganglienzellen dunkelblau. Hypophyse schwarzblau.

Mikroskopisch: Ganglienzellen der Gehirnrinde, der Stammganglien des Rückenmarks blau granuliert gefärbt. Thrombosen weder in der Rinde noch im Stammganglion. Adventitia blau gefärbt, Gliazellen hellblau. Spinalganglienzellen hellblau.

Über Farbstoffverteilung in den anderen Geweben soll anderswo berichtet werden.

3500 g schwerer Katze werden in die *Vena femoralis* 10, dann 20 ccm Methylblau A injiziert, nach je 10 Min. 20 ccm Methylblau A, 10 ccm Fuchsin S, 30 ccm Methylblau A, 40 ccm Eosin, 50 ccm Methylblau A verabfolgt.

Schon nach der zweiten Spritze, d. h. nachdem das Tier 30 ccm Methylblau A erhielt, entstanden heftige epilepsieartige Krämpfe. Das Tier geht in Zustand der Bewußtlosigkeit ein.

Sofortige Obduktion: Das Zentralnervensystem zeigt keine Färbung, erst in Formolessigsäure regeneriert, wird die Gehirnrinde, Stammganglien, das Rückenmark *grau-dunkelblau-violett*, eine interessante Mischfärbung, aber das Marklager und das Rückenmarksweiß ist rosa gefärbt; an Gefrierschnitten sind die Ganglienzellen der Gehirnrinde und der Stammganglien, des Rückenmarksgraus blau granuliert gefärbt, Gliazellen in der Gehirnrinde und im Mark, Rückenmark. Stammganglien hellblau diffus gefärbt. Plexuszellen sind mit Farbstoffkörnchen feinsten Verteilung angereichert.

5000 g schwere Katze. Im Verlauf von 1½ Stunde werden intravenös langsam, mit einer 10 ccm Rekordspritze 90 ccm Methylblau A; 20 ccm Methylblau A; 10 ccm Methylblau A; 30 ccm Methylblau F verabfolgt.

Heftige Krämpfe, dann Bewußtlosigkeit, Exitus. — Die Krämpfe haben epileptiformen Charakter. *Tod 1 Stunde nach der letzten Injektion.*

Sofort obduziert; das Zentralnervensystem und Rückenmark sind farblos, erst in Formolessigsäure regeneriert die Farbe in der Rinde, in den Stammganglien, im Grau des Rückenmarks, in den Spinalganglien, in der Hypophyse intensiv dunkelblau.

An Gefrierschnitten feinste granuliert verteilte Farbstoffkörner in den Ganglienzellen der Gehirnrinde und in den Stammganglien, aber auch in den Zellen des Rückenmarks. Gliazellen hellblau. Plexuszellen enthalten feinste Körnchen von Methylblau.

4000 g schwere Katze erhielt intravenös 90 ccm Methylblau A + 40 ccm Säurerotviolett + 25 ccm Methylblau A.

Krämpfe nach 40 ccm Methylblau A. Tod nach 1 Stunde, nachdem das Tier die letzte Spritze der Methylblau A-Farbstofflösung erhielt.

Sofortige Obduktion: Gehirn und Rückenmark farblos. In der Regenerierungsflüssigkeit Gehirnrinde, Stammganglien, Plexus chorioideus, Rückenmarksgrau *dunkelblau* gefärbt.

An Gefrierschnitten: Ganglienzellen der Rinde der Stammganglien, Ganglienzellen des Rückenmarks granuliert blau gefärbt. Gliazellen hellblau diffus gefärbt. Plexus chorioideus, Ependymzellen blau gefärbt, Spinalganglienzellen hellblau granuliert gefärbt. Adventitia blau gefärbt.

3000 g schwere Katze. Erhält 60 ccm Methylblau A in 10 ccm großen Dosen, 20 ccm Säurerotviolett + 10 ccm Methylblau A + 20 ccm Säurerotviolett.

Krämpfe und Exitus in 5 Minuten nach den letzten 10 ccm Farbstofflösung.

Obduktion sofort nach dem Exitus. *Gehirn, Rückenmark, Stammganglien* farblos, in der Formalinessigsäurelösung wird die Gehirnrinde blau, Stammganglien *dunkelblau*.

Rückenmarksgrau *dunkelblau* gefärbt, die Blaufärbung hat einen violetten Stich Marklager rosaviolett. Innere Kapsel rosaviolett gefärbt. Marklagersystem des Rückenmarks rosa. Intervertebrale Ganglienzellen blau. Adventitia blau.

2000 g schwere Katze. Es wurden intravenös in 10 ccm-Dosen von einer 2proz. Ammoniumbromidlösung 100 ccm verabfolgt nach einer Dosis (10 ccm) Ammon. Bromidlösung bekommt das Tier intravenös aus einer Lösung von 1proz. Goldchloridlösung, welche 8mal verdünnt wurde, insgesamt 100 ccm.

Das Tier schläft nach 10—20 ccm 2proz. Ammoniumbromidlösung ein; einige bis 10 ccm 1:8 verdünnte 1proz. Goldchloridlösung erregt das Tier, es wird unruhig und sehr wild.

Gefrierschnitte 20 μ in Formol-Goldchlorid-Sublimatlösung: Violette Färbung der Gliazellen und Gliafasern.

5200 g schwerer Katze werden intravenös folgende Dosen Farbstofflösungen verabfolgt: 10 ccm Methylblau A; 10 ccm Methylblau A; 10 ccm Methylblau A: 20 ccm Säurerotviolett; 15 ccm Erythrosin; 10 ccm Methylblau A; 10 ccm Säurerotviolett; 10 ccm Erythrosin; 10 ccm Methylblau F; 10 ccm Säurerotviolett; 10 ccm Erythrosin; 10 ccm Methylblau A.

Epilepsieartige Krämpfe. Bewußtlosigkeit. Exitus.

Sofortige Obduktion. Gehirn und Rückenmark farblos. In Formolessigsäurelösung Gehirnrinde, Stammganglien und Rückenmarksgrau *dunkelblauviolett*.

Marklager und Rückenmarksweiß rot gefärbt.

An Gefrierschnitten Ganglienzellen, Gliazellen blau, *fein granuliert* gefärbt (Gehirnrinde und Rückenmark). Rückenmarksfasern diffus rosa gefärbt.

Kaninchen, 2000 g (grau). Intravenös 9 ccm 2½proz. wässrige Lösung von *Magentarot*.

Riesige Krämpfe, Tod in 1 Sekunde.

Sofortige Obduktion: Gehirn farblos, auch in der Regenerationslösung Formolessigsäure bleibt das Gehirn farblos. Leber: Rosafärbung. In der Lunge keine Embolien. Keine Thrombosen.

5400 g schwere Katze. Aus den Farblösungen 2proz. Säurerotviolett, 2proz. Methylblau A erhält das Tier intravenös:

Um 12 Uhr mittags: 40 ccm Säurerotviolett; 30 ccm Methylblau A; 20 ccm Säurerotviolett; 10 ccm Methylblau A; 10 ccm Säurerotviolett; 20 ccm Säurerotviolett.

Um 5 Uhr nachmittags: 34 ccm Säurerotviolett; 10 ccm Methylblau A; 10 ccm

Methylblau A; 10 cem Säurerotviolett; 20 cem Methylblau A; 40 cem Erythrosin; 40 cem Methylblau A.

Unter Krämpfen und darauffolgender Bewußtlosigkeit Exitus 1 Stunde nach der letzten Spritze.

Sofortige Obduktion: Gehirn farblos, Rückenmark farblos. Das Gehirn und Rückenmarksgrau, Stammganglien färben sich in Formolessigsäure dunkelblauviolett an. Gehirnrinde und Rückenmarkweiß rosa gefärbt.

An Gefrierschnitten feinste granuliert Färbung des Protoplasmas der Ganglienzellen der Rinde und des Rückenmarks.

3200 g schweres Kaninchen, ♂. 10 cem Magentarot, 2½proz. wässrige Lösung. Riesige Krämpfe. Exitus in 1½ Minute.

Sofort obduziert: Keine Färbung des Gehirns, keine Färbung in Formolessigsäure.

Leberparenchym rotgefärbt. Keine Thrombosen noch Embolien.

Schwarzes, 2000 g schweres Kaninchen. 10 cem 2½proz. *Methylblau G* intravenös. Starke epileptiforme Krämpfe. Erschlaffung der Muskeln, in einigen Minuten Tod.

Sofortige Obduktion. Keine Färbung des Zentralnervensystems. Nur in Formolessigsäure Blaufärbung der Rinde und des Rückenmarksgrau und der Stammganglien.

An Gefrierschnitten feinste granuliert Färbung des Protoplasmas der Ganglienzellen.

Weißes Kaninchen, 2300 g schwer. 18 cem 1,25proz. Methylblau C intravenös. Matt, schläfrig, betäubt, nach 3—4 Minuten riesige Unruhe, epileptiforme Krämpfe. Nach ½ Stunde Tod.

Sofortige Obduktion. Gehirn, Stammganglien und Rückenmark farblos. In Formolessigsäure regeneriert, finden wir blaue Anfärbung der Gehirnrinde, der Stammganglien und des Rückenmarksgrau. Die Spinalganglienzellen färben sich blau.

Gefrierschnitte: Gehirnrindenzellen, Stammganglienzellen blau granuliert gefärbt, Rückenmarkszellen blau granuliert. Adventitia blau gefärbt. Plexuszellen führen blaue Granula.

Geflecktes Kaninchen, 2500 g schwer, ♀. 18 cem *Methylblau H* intravenös. Schläfrig, fast bewußtlos, zieht die Hinterbeine, es kann sich kaum regen; im Schlaf oder „narkotisiertem„ Zustande Eintritt des Todes im Verlauf von 15 Min.

Sofortige Obduktion. Gehirn, Stammganglien und Rückenmark farblos. In Formolessigsäure Blaufärbung der Gehirnrinde und Stammganglien, des Rückenmarksgrau.

An Gefrierschnitten: Blaue Färbung der Ganglienzellen, Gliazellen der Rinde, der Stammganglien und der Zellen des Rückenmarks. Blaufärbung der Spinalganglien.

Großes schwarzes Kaninchen, ♀, 3350 g schwer. 10 cem 2½proz. Lichtgrün, einige Minuten später 5 cem 2½proz. *Methylblau Original* intravenös (Ohrvene). Täglich 7 Tage hindurch in Dosen von 10—10 cem intravenös bekam das Tier 40 cem Fuchsin S, 40 cem Wasserblau. Am letzten Tage intravenös 50 cem Methylblau A.

Matt, schläfrig, nach 10 Minuten Krämpfe, in den Krämpfen Exitus.

Sofortige Obduktion. In Formolessigsäure regenerieren wir die Farbstoffe in der Gehirnrinde, Stammganglien und im Rückenmarksgrau blau. Gehirnmarklager, innere Kapsel rosa gefärbt. Plexus-chorioideus-Zellen blau gefärbt. Rückenmark weiß-rosa gefärbt.

An Gefrierschnitten Ganglienzellen blau, Gliazellen blau gefärbt. Rückenmarkszellen blau gefärbt. Plexus-chorioideus-Zellen blau gefärbt.

Weißes Kaninchen, 2000 g schwer. Erhielt 40 ccm Wasserblau intravenös + 40 ccm 2½ proz. Methylblaulösung intravenös; es wurde matt und sehr bekommen, nach 15 Min. heftige Krämpfe. Exitus.

Sofortige Obduktion. Gehirn farblos, Rückenmark, Stammganglien farblos. In Formolessigsäure wird die Gehirnrinde, Stammganglien, das Grau des Rückenmarks tiefblau gefärbt, Spinalganglienzellen, Plexuszellen tiefblau gefärbt.

An Gefrierschnitten feine granuliertte Färbung der Ganglienzellen, Gliazellen, der Gehirnrinde, der Stammganglien und der Rückenmarkszellen, der Zellen des Plexus chorioideus.

II.

Katze, 3800 g. Subcutan: 10 ccm Eosin; intravenös: 20 ccm Eosin + 40 ccm Methylblau A; 10 ccm Fuchsin S. In die Arteria femoralis: 40 ccm Eosin + 50 ccm Methylblau A. Sehr heftige Krämpfe. Exitus.

Sofortige Obduktion. Violette Färbung (intensiv blauviolett) der Gehirnrindenzellen, der Zellen der Stammganglien, der Rückenmarkszellen.

An Gefrierschnitten: Ganglienzellen dunkelblau, fein granuliert gefärbt, sowohl in der Rinde, in den Stammganglien, in den Säulen des Rückenmarks. Das Marklager und Rückenmarksweiß, innere *Kapsel rosa gefärbt*, Gliazellen überall hellblau. Adventitiazellen blau.

Katze, 4200 g. 30 ccm Methylblau A intraarteriell. Sehr heftige Krämpfe. Exitus.

Sofortige Obduktion. In Formolessigsäure regeneriert die Farbstofflösung in den Ganglienzellen der Rinde, der Stammganglien und in den Zellen des Rückenmarks.

An Gefrierschnitten: Dunkelblaue, feingranulierte Färbung der Rückenmarkszellen, der Zellen der Stammganglien, der Gehirnrinde.

3800 g schwere Katze. Methylblau A 30 ccm; Fuchsin S 40 ccm; *Methylblau F* 20 ccm.

Krämpfe, die sehr heftig sind. Matt, bewußtlos. Exitus.

Sofortige Obduktion. Violette Färbung der Ganglienzellen, der Gehirnrinde und Stammganglien, der Rückenmarkszellen, *Spinalganglienzellen in Formolessigsäure*. Bei der Obduktion sind die Gewebe des Zentralnervensystems farblos. Adventitiazellen sind dunkelblau und blau gefärbt in der Regenerationslösung = Formolessigsäure.

2000 g schwere Katze. 10 ccm Methylblau A in die *Arterie*. Riesige Krämpfe, die sofort nach Einverleiben von 4—5 ccm des Farbstoffes entstehen, die Krämpfe dauern einige Stunden, dann Bewußtlosigkeit. Exitus.

Sofort obduziert. Keine Thrombosen und Embolien. Das Gehirn und Rückenmark, die Stammganglien farblos. In Formolessigsäure sofortige Färbung der Gehirnrinde, der Stammganglien, des Rückenmarksweißes *dunkelblau*. Spinalganglien dunkelblau.

An Formolessigsäure-Gefrierschnitten: Blau-feine granuliertte Färbung der Rindenzellen, der Stammganglienzellen, der Adventitiazellen, der Zellen des Rückenmarks.

2000 g schwere Katze. Intravenös 30 ccm Methylblau A. Schläfrig, matt, wie völlig betäubt.

10 ccm Methylblau A in die Arterie des Beines. Heftige, epileptiforme Krämpfe. Atem wird langsamer. Exitus nach dem Krampfe.

Sofortige Obduktion. Keine Embolien im Gehirn. Keine Thrombosen. Gehirnrinde, Stammganglien, Rückenmark, Spinalganglien farblos, erst in Formol-

essigsäure regeneriert starke dunkle Blaufärbung der Gehirnrinde, der Stammganglien. Am Rückenmarksquerschnitt Rückenmarksgrau dunkelblau.

An Gefrierschnitten färben sich die Ganglienzellen der Rinde, der Stammganglien, das Rückenmarksgrau dunkelblau, fein granuliert; Spinalganglienzellen fein granuliert blau. Adventitiazellen blau.

Katze 4000 g. Intravenös 90 ccm Methylblau A, 40 ccm Säurerotviolett; in die Art. femoralis 25 ccm Methylblau A.

Krämpfe sehr heftig, besonders nach den Injektionen in die Arterie des Hinterbeines. Tod nach 1 Stunde.

Sofortige Obduktion. An Gefrierschnitten sind die Gehirnrindenzellen, die Zellen des Rückenmarks und Stammganglien fein granuliert blau gefärbt. Adventitiazellen blau.

Gliazellen hell, diffus blau. An der Luft sind die sämtlichen Teile des Zentralnervensystems farblos. In Formolessigsäure regenerieren wir den Farbstoff in der Rinde, in den Stammganglien und in den Zellen und Geweben des Rückenmarksgraus intensiv *blauviolett*, *hellblauviolett* in den Marklagern.

Katze, 3800 g. Intravenös: 60 ccm Methylblau A, 20 ccm Säurerotviolett. In die Art. femoralis: 10 ccm Methylblau A, 20 ccm Säurerotviolett.

Krämpfe nach der intraarteriellen Injektion sehr heftig. Tod in 5 Minuten.

Sofort obduziert. Gehirnrinde und Stammganglien, Rückenmarksgrau regenerieren in Formolessigsäure mit *dunkelvioletter Farbe*, wobei Blau überwiegt; *dunkelvioletten Färbung* des Marklagers und der weißen Substanz.

An Gefrierschnitten feine blaue granuliert Färbung der Ganglienzellen der Rinde der Stammganglien und der Rückenmarkszellelemente.

Violette, helle, diffuse Färbung der Fasern und des Marklagers, die Gliazellen. Blaue Färbung der Zellen des Plexus chorioideus; starke blaue Färbung der Adventitiazellen.

4500 g schwere Katze, ♂. Intravenös (Vena femoralis): 70 ccm Methylblau A; intraarteriell (Art. femoralis): 20 ccm Methylblau F, 10 ccm Methylblau A, 30 ccm Methylblau F.

Heftige Krämpfe, aber es lebt noch 3 Stunden nach der letzten Injektion in bewußtlosem Zustande. Exitus.

Sofortige Obduktion. Gehirn und Stammganglien, Rückenmark farblos; in Formalinessigsäureregenerationsflüssigkeit Gehirnrinde und Stammganglien, Rückenmarksgrau, Spinalganglienzellen dunkelblau gefärbt. Rückenmarksweiß, innere Kapsel und Gehirnmarklager hellblau.

An Gefrierschnitten: Ganglienzellen der Rinde, der Stammganglien und des Rückenmarks fein, dunkelblau granuliert gefärbt. Gliazellen hellblau diffus gefärbt, Plexus-chorioideus-Zellen blau granuliert und diffus hellblau gefärbt. Adventitiazellen dunkelblau gefärbt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es konnte wiederum gezeigt werden, daß die Triphenylmethanfarbstoffe bzw. das *Methylblau A—J*, *Säurerotviolett* elektrope vitale Farbstoffe sind, die Neurotropie zeigen.

2. Bei der Adsorption des Farbstoffes zum Zentralnervensystem, welche nur eine gewisse beschränkte Zeit dauert, spielen elektrostatische physikalische Kräfte eine dominante Rolle.

3. Mit Methylblau A, F, G konnte ich epileptiforme Krämpfe, Erregung und Schlaf hervorrufen.

4. Es konnte eine Beziehung zwischen Quantum des Farbstoffes und dem Erscheinen von Krampfanfällen festgestellt werden.

5. Durch die intravenöse und intraarterielle *Einspritzung des vitalen Farbstoffes Methylblau A—J* wird zugleich ein Indikator mit bekannten physikalischen Eigenschaften in den Kreislauf gebracht, dessen Mole sich wie kreisende Elektroskope sich benehmen und wirken (Karczag). Durch die chemische, besonders aber physikalische Struktur der vitalen Elektroskope konnte ich die meisten Symptome des epileptiformen Anfalles hervorrufen. *Da die Farbe, der vitale Farbstoff nach der Beendigung des Versuches in dem Zentralnervensystem des sofort obduzierten Tieres aus der Carbinolform, das heißt nur die eine tautomere Form adsorbiert wurde, und das Nervensystem gefärbt ist, und zwar die Stammganglien, subthalamischen Zentren, Rückenmarksgrau und die Zellen der Rinde*, so haben wir eine biologische Methode vor uns, mit der wir in der Lage sind, die Erscheinungen des Schlafes, der Krampfanfälle und die Arbeit der vegetativen Zentren studieren zu können. Desto mehr, da nicht nur die chemische Konstitution, sondern die physikalischen Faktoren des Farbstoffes Methylblau (Dr. Grüber) bekannt sind. Es ist mir gelungen, die vegetativen Zentren nach Vergiftung mit verschiedenen Giften, mit dem vitalen Farbstoff intensiv blau auszufärben.

6. Methylblau A—J verursacht subcutan in 2½proz. Lösung Nekrose (optocyclylähnlich); ich konnte beobachten, daß bei intravenöser Injektion des Farbstoffes an der Stelle des Einstiches sowohl eine gewisse Länge des Gefäßes lang starke Kontraktion des Gefäßes nach der Injektion erfolgt. Gewiß spielen hier Reaktionen der Gefäßwände infolge der Injektion des Methylblaus eine Rolle bei der Entstehung von Krämpfen; über diese Komponente des Farbstoffversuches sind von mir Untersuchungen angestellt, deren Ergebnisse ich an anderer Stelle mitteilen werde.

7. Sicherlich spielen die Dispersität und auch die p_H der Farbstoffe Methylblau A—F—J eine gewisse Rolle bei der Hervorrufung von Krämpfen, trotzdem auch die verbrauchten Mengen der Farbstoffe ausschlaggebend bei der Krampfauslösung sind.

8. Die *P. Ehrlichsche* Behauptung, sulfosaure Farbstoffe werden vom Gehirn nicht zurückgehalten, hat keine allgemeine Gültigkeit, denn Methylblau A—J wird 18 Stunden lang von den Ganglienzellen des Gehirns adsorbiert in Form seines Carbinols; erst dann werden die Farbstoffmoleküle — nachdem das Zentralnervensystem die Methylblaucarbinolmoleküle durch elektrostatische Abstoßung weiterstößt — an Gewebezellen niederer Spannung weiterbefördert.
