

# **p-Oxyphenyläthylamin, das Speicheldrüsengift der Cephalopoden.**

Von

**M. Henze.**

(Aus der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station zu Neapel.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. Juli 1913.)

## I.

Lo Bianco<sup>1)</sup> machte das erstemal die Beobachtung, daß die Cephalopoden beim Fang ihrer Beute ein äußerst wirksames Gift benutzen, welches von den sogenannten hinteren Speicheldrüsen produziert wird und das insbesondere Krebsse fast augenblicklich lähmt. Diese Beobachtung ist des öfteren bestätigt worden und die pharmakologische Wirkung des Drüsensekrets sowohl an Krebsen als an höheren Tieren studiert worden; Krause,<sup>2)</sup> Livon<sup>3)</sup> und Briot, Baglioni.<sup>4)</sup>

Die chemische Natur des Giftes blieb dunkel, bis Livon und Briot<sup>3)</sup> eine Arbeit veröffentlichten, in der sie behaupteten, das spezifische Speicheldrüsengift sei eine durch Alkohol fällbare und durch Hitze zerstörbare Substanz, mit anderen Worten ein Toxalbumin. Da ich damals selbst die chemische Untersuchung des Giftes begonnen hatte, teilte ich in einer kurzen

<sup>1)</sup> Lo Bianco, Notizie biologiche riguardanti specialmente il periodo di maturità sessuale degli animali del golfo di Napoli. *Mitteilg. d. zool. Stat. Neapel*, Bd. 13, S. 530.

<sup>2)</sup> R. Krause, Über Bau und Funktion der hinteren Speicheldrüsen der Octopoden. *Sitzungsberichte, Akad. Berlin* 1897 (1905).

<sup>3)</sup> *Journ. d. Physiol. et Pathol. gén.*, Bd. 8, S. 1. Ferner: Briot, Sur le rôle des glandes salivaires des céphalopodes *C. R. Soc. B.*, Bd. 58, S. 384. Sur le rôle d'action du venin des céphalopodes, *ibid.*, S. 386. Ch. Livon et A. Briot, Les sucs salivaires des céphalopodes est un poisson nerveux pour les crustacés, *ibid.*, S. 878.

<sup>4)</sup> S. Baglioni, Zur Kenntnis der physiologischen Wirkung des Cephalopodengiftes, *Zeitschr. f. Biolog.*, Bd. 52, S. 130.

Publikation<sup>1)</sup> meine ersten Beobachtungen mit, da dieselben mit den Angaben der französischen Autoren in direktem Widerspruch standen. Ich fand, daß das Gift den Drüsen durch absoluten Alkohol entzogen werden konnte und durchaus resistent gegen Hitze, d. h. gegen Aufkochen der Lösung war. Es hatte alle Eigenschaften einer organischen Base (Alkaloid) und wurde bereits damals von mir in krystallisierter Form erhalten. Mit diesem von mir dargestellten krystallisierten Gifte hat dann Baglioni<sup>2)</sup> vergleichende pharmakologische Studien gemacht und sich insbesondere überzeugt, daß die Wirkungen des Drüsensekrets und des isolierten Giftes identisch waren.

Die Materialschwierigkeiten verzögerten die endgültige Lösung des Problems, doch konnte inzwischen nachgewiesen werden, daß mit dem Gift, außer dem schon anfangs gefundenen Taurin, noch eine zweite krystallisierende organische Base vergesellschaftet ist (cf. meine erste obengenannte Mitteilung), die ungiftig ist und als Betain erkannt wurde.<sup>3)</sup>

Seitdem ist es gelungen, die chemische Konstitution des Giftes aufzuklären und seine Identität mit p-Oxyphenyläthylamin sicherzustellen. Damit ist auch seine Isolierung aus der Drüse mit keinen Schwierigkeiten mehr verbunden.

## II.

Bis dahin wurde zur Isolierung des Giftes gewöhnlich folgender Weg eingeschlagen. Eine größere Anzahl der frisch exstirpierten Drüsen wurde gesammelt, zerschnitten und sofort in absoluten Alkohol geworfen. Dann wurden sie mit Quarzsand zerrieben und mit wässrigem Alkohol, dem etwas Salzsäure zugesetzt wurde, extrahiert und ausgepreßt. Nach dem Abdunsten des Alkohols hinterbleibt eine mit fettähnlichen Substanzen durchsetzte Masse. Verrührt man dieselbe mit Wasser

<sup>1)</sup> M. Henze, Chemisch-physiologische Studien an den Speicheldrüsen der Cephalopoden: Das Gift und die stickstoffhaltigen Substanzen des Sekretes. C. B. f. Physiolog., Bd. 19, Nr. 26.

<sup>2)</sup> Vgl. oben cit. Arbeit.

<sup>3)</sup> M. Henze, Über das Vorkommen des Betains bei Cephalopoden. Diese Zeitschr., Bd. 70, S. 253.

und versucht sie mit organischen Solventien (Äther, Chloroform oder Benzol) zu extrahieren, so bilden sich derartig lästige Emulsionen, daß dabei zweifellos Verluste an Gift stattfinden. Es ist einfacher, den abgedunsteten Alkoholextrakt mit mehrfach gewechselten Wassermengen durchzurühren und durch mehrere Filter zu filtrieren.

Die Filtrate werden konzentriert, wobei neben anorganischen Salzen Taurin und salzsaures Betain auskrystallisieren, die, wie früher beschrieben, identifiziert werden können.

Zur weiteren Isolierung des Giftes wurden dann die verschiedensten Mittel versucht. Bis vor kurzem wurde meist mit einer Fällung durch Phosphorwolframsäure begonnen, die aber nicht quantitativ und anfangs schmierig ist, wodurch die an und für sich geringen Giftmengen noch verkleinert wurden. So gelang es nur selten, neben dem reichlich vorhandenen Betain minime Mengen des krystallisierenden Giftes in einigermaßen reinem Zustande zu isolieren. Alle die verschiedenen Wege zu erwähnen, die bei der Untersuchung so kleiner Substanzmengen nicht zum Ziele führten, hat keinen Zweck. Nur sei erwähnt, daß Pikrinsäure, Gold- und Platinchlorid entweder keine oder doch so leicht lösliche Fällungen gaben, daß sie zur Isolierung keine Anwendung finden konnten.

Es gelang dann, so viel Material zu bekommen, um davon ein schwefelsaures Salz, von dem anzunehmen war, daß es wenigstens nahezu analysenrein war, analysieren zu können.

Es gaben: 0,2536 g (im Vakuum getr.) Substanz: 7,89% N, 22,04%  $H_2SO_4$ .

Der Stickstoffgehalt war also ziemlich niedrig.

Eine weitere an diesem Material gemachte Beobachtung leitete dann rasch auf den richtigen Weg.

Das Gift zeigte nämlich mit Eisenchlorid eine Farbenreaktion, die an diejenige des Adrenalins erinnerte, mit anderen Worten eine Phenolgruppe vermuten ließ. Im weiteren Einklang damit lieferte sie intensivste Millonsche Reaktion, mit deren Hilfe selbst Spuren nachzugehen war. Damit war die chemische Klassifikation im allgemeinen angedeutet. Im Hinblick auf die früheren Beobachtungen, denen zufolge die Verbindung keine

Fällungen mit Pikrinsäure und Goldchlorid gab, wohl aber einen weißgelben Niederschlag mit Bromwasser lieferte, ließ im Verein mit der oben angeführten Analyse<sup>1)</sup> vermuten, es könne sich um p-Oxyphenyläthylamin handeln.

Vor allem deckten sich damit auch die pharmakologischen Beobachtungen. Schon Baglioni sagte, daß das Vergiftungsbild an die Wirkungsweise phenolartiger Substanzen erinnere, und bei Durchsicht der schönen Arbeiten von Barger<sup>2)</sup> und verschiedener seiner Mitarbeiter über die blutdrucksteigernde Wirkung des neben anderen Aminen aus gefaultem Fleisch und aus Mutterkorn isolierten p-Oxyphenyläthylamins erhielt die obige Vermutung eine weitere Stütze. Ich stellte mir nun durch Erhitzen von Tyrosin auf 270° eine kleine Menge synthetisches p-Oxyphenyläthylamin dar und verglich dessen Wirkung mit der des Speichelsekrets resp. des daraus isolierten Giftes an Krabben. Die Übereinstimmung in der Wirkungsweise war frappant.

### III.

Die endgültige Charakterisierung des Giftes gelang hierauf auf folgende Weise:

Die mit Sand zerriebenen Drüsen wurden bei Gegenwart von etwas Salzsäure mit ca. 70%igem Alkohol extrahiert. Die Lösungen wurden im Vakuum verdampft und der dicke, zunächst mit Sand und Glasperlen durchmischte, hinterbleibende Sirup ca. zwölfmal mit stets gewechselten Acetonmengen durchschüttelt. Das p-Oxyphenyläthylamin geht dabei in das Aceton über und man entfernt zugleich die Eiweißsubstanzen, sowie Taurin, Betainchlorid und anorganische Salze fast vollständig. Die vereinigten Acetonauszüge blieben zur Klärung über Nacht stehen, wurden durch ein trockenes Filter gegossen und ab-

<sup>1)</sup> Schwefelsaures p-Oxyphenyläthylamin verlangt für N = 7,5%  
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 26,3%.

<sup>2)</sup> G. Barger and G. S. Walpole, Isolation of the pressor principles of putrid meat. Journ. of Physiol., Bd. 38, S. 341. — G. Barger u. H. H. Dale, Über Mutterkorn. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 61, S. 113.

destilliert. Der Rückstand wurde mit Chloroform versetzt, doch fand beim Ausschütteln mit Wasser eine derartige Emulsionsbildung statt, daß die wässerige Schicht nur nach sehr langem Stehen und nur unvollständig abgetrennt werden konnte. Aus diesem Grunde wurde die milchige Chloroformschicht im Destillierapparat vom Chloroform befreit und der Rückstand zweimal mit Wasser ausgezogen und von fettähnlichen Substanzen durch Filtrieren getrennt. Dieser Auszug wurde mit der zuerst vom Chloroform getrennten wässerigen Schicht vereinigt und konzentriert.<sup>1)</sup> Er wirkte stark giftig und gab intensive Millonsche Reaktion.

Diese Lösung wurde jetzt mit Natronlauge alkalisch gemacht, wobei ein geringer Niederschlag ausfiel, der abfiltriert wurde, und nun mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Diese Ätherauszüge hinterließen so gut wie nichts beim Verdampfen. Hierauf wurde die wässerige Lösung abermals sauer gemacht und nunmehr mit Natriumcarbonat in kleinem Überschuß versetzt, worauf sie ca. zwölfmal mit Äther ausgeschüttelt wurde. Beim Abdestillieren des Äthers hinterblieb eine geringe Menge eines bräunlichen Öls, das sich sofort vollständig in etwas Salzsäure enthaltendem Wasser auflöste. Es gab starke Millonsche Reaktion und bedingte in kleinster Menge die charakteristischen Vergiftungserscheinungen an Krabben. Diese Substanz wurde nach Schotten-Baumann benzoyliert, wobei sofort ein Benzoylprodukt ausfiel.

Da die obige mit Äther ausgezogene wässerige Lösung noch immer starke Millonsche Reaktion zeigte, war offenbar das p-Oxyphenyläthylamin noch nicht vollständig in den Äther übergegangen. Die Lösung wurde deshalb ebenfalls der Benzoylisierung unterworfen, und in der Tat lieferte sie noch eine weitere Ausbeute. Die Benzoylprodukte wurden mit Wasser und Äther gewaschen und auf Ton gestrichen. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus 70%igem Alkohol änderte das Produkt seinen Schmelzpunkt nicht mehr. Es

<sup>1)</sup> In Zukunft wird es jedenfalls am zweckmäßigsten sein, die Drüsen direkt mit Aceton zu erschöpfen und dann den Acetonverdampfungsrückstand mit Wasser auszuziehen.

schmolz glatt bei 169—170°, dem Schmelzpunkt des Dibenzoyl-p-oxyphenyläthylamins.

Dieses Ergebnis im Verein mit der Analyse des schwefelsauren Salzes und allen den charakteristischen Reaktionen lassen keinen Zweifel, daß es sich um p-Oxyphenyläthylamin handelt.

Die von den Rohbenzoylprodukten abfiltrierte wässrige Flüssigkeit wurde mit Äther ausgeschüttelt und angesäuert. Nach Filtration der dabei ausfallenden Benzoesäure wurde der Rest derselben durch dreimaliges Ausschütteln mit Äther entfernt und die Lösung vorsichtig zur Trockene verdampft. Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol erschöpft, um das Chlornatrium abzutrennen. Nach Verdunsten des Alkohols hinterblieb ein geringer bräunlicher Rückstand. Er löste sich in Wasser, gab aber weder die Millonsche Reaktion noch erzeugte er, Krabben injiziert, irgend welche Vergiftungserscheinungen.

Damit ist zugleich der Beweis erbracht, daß das p-Oxyphenyläthylamin der einzige giftige Bestandteil des Octopus-Speichels ist.

Das Vorkommen des p-Oxyphenyläthylamins als spezifisches Stoffwechselprodukt in den Speicheldrüsen der Cephalopoden dürfte auch ein allgemeineres physiologisches Interesse beanspruchen. — Bekanntlich findet sich das p-Oxyphenyläthylamin unter den Produkten der Eiweißfäulnis, wo es wohl von Gautier<sup>1)</sup> zuerst beobachtet wurde, und in dem Barger und Walpole<sup>2)</sup> denjenigen Körper erkannt haben, der die dem Adrenalin so ähnliche pharmakologische Wirkung bedingt. Das p-Oxyphenyläthylamin entsteht in diesem Falle durch baktericide Wirkung aus Tyrosin unter Kohlensäureabspaltung, eine Reaktion, die bekanntlich bei vielen Aminosäuren konstatiert worden ist, seitdem Ellinger<sup>3)</sup> zuerst die Aufmerksamkeit auf sie gelenkt hat.

---

<sup>1)</sup> Gautier, Sur les tyrosinamines. Bull. soc. chim. de Paris, Bd. 1, S. 35, 1195.

<sup>2)</sup> cf. oben.

<sup>3)</sup> A. Ellinger, Die Konstitution des Ornithins und des Lysins. Zugleich ein Beitrag zur Chemie der Eiweißfäulnis. Diese Zeitschrift, Bd. 29, S. 334.

Ob das p-Oxyphenyläthylamin nicht auch als sekundäres Eiweißabbauprodukt oder auf fermentativem Wege im Organismus gebildet werden kann, war bisher eine noch ungelöste Frage. Emerson<sup>1)</sup> hat bei der «aseptischen» Pankreasverdauung p-Oxyphenyläthylamin aufgefunden, und das gleiche ist von Langstein<sup>2)</sup> für die peptische Eiweißspaltung angegeben worden. Abderhalden<sup>3)</sup> bestreitet diese Angaben, wenigstens konnte er bei sorgfältigster Ausschaltung jeder Bakterienwirkung weder bei peptischer noch bei tryptischer Verdauung von Eiweißkörpern die genannte Verbindung auffinden. Von Bedeutung ist in dieser Hinsicht, daß die Entstehung des p-Oxyphenyläthylamins auch im Käse bei der Käse- reifung beobachtet worden ist<sup>4)</sup> und Barger und Dale<sup>5)</sup> es aus dem Mutterkorn isoliert haben, wo es einen der aktivsten und hauptsächlichsten Bestandteile ausmacht. In diesen letztgenannten Fällen dürfte man schon eher geneigt sein, eine fermentative Bildung aus Tyrosin anzunehmen. Durch die vorliegende Untersuchung ist mit Sicherheit nachgewiesen, daß das p-Oxyphenyläthylamin ein Stoffwechselprodukt einer Drüse ist, genau wie das Adrenalin, mit dem es chemisch und pharmakologisch aufs engste verwandt ist.

Ob auch hier das Tyrosin als Muttersubstanz anzusehen ist, müssen weitere Versuche lehren, und es wird insbesondere meine nächste Aufgabe sein, nach dem Vorkommen spezifischer Fermente in der Drüse zu suchen. Entstände das p-Oxyphenyläthylamin in letzter Stufe aus Tyrosin, so ist nicht ausgeschlossen, daß während der Drüsentätigkeit eventuell eine Kohlensäureabspaltung nachzuweisen wäre. Daß derartige Reak-

---

<sup>1)</sup> Emerson, Über das Auftreten von p-Oxyphenyläthylamin bei Pankreasverdauung und über fermentative Kohlensäureabspaltung. Hofmeisters Beiträge, Bd. 1, S. 501.

<sup>2)</sup> Langstein, Zur Kenntnis der Endprodukte der peptischen Verdauung, *ibid.* S. 514.

<sup>3)</sup> Abderhalden, Lehrbuch d. physiol. Chem. (1909), S. 353.

<sup>4)</sup> Winterstein u. Küng, Über das Auftreten von p-Oxyphenyläthylamin im Emmentaler Käse. Diese Zeitschrift, Bd. 59, S. 138.

<sup>5)</sup> Vgl. oben.

tionen vorkommen, zeigt die Beobachtung, die an den Speicheldrüsen anderer Mollusken gemacht worden ist, weshalb sie hier erwähnt werden soll. Nachdem Schönlein<sup>1)</sup> aufgefallen war, daß aus dem sauren Speichelsekret von Tritonium nodosum eine organische Substanz isoliert werden kann, wurde von mir<sup>2)</sup> nachgewiesen, daß es sich um Asparaginsäure handelt. Schönlein hat aber auch entdeckt, daß bei der Drüsentätigkeit gleichzeitig Kohlensäure gebildet wird. Zu diesem Zwecke reizte er die Drüse durch faradayische Ströme, hebt aber speziell hervor, daß die Gasentwicklung absolut nichts mit einer sekundären elektrolytischen Erscheinung an den Elektroden zu tun habe, sondern ein Stoffwechselprodukt der tätigen Drüse sei.

Hier dürften sich möglicherweise analoge Beziehungen ergeben.

---

<sup>1)</sup> M. Schönlein, Über Säuresekretion bei Schnecken. Zeitschr. f. Biolog., Bd. 36, S. 523.

<sup>2)</sup> M. Henze, Über das Vorkommen freier Asparaginsäure im tierischen Organismus. Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. 34, S. 348.