Beiträge

zur

Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine.

Eine auf Veranlassung der Königl. Bayerischen Akademie der Wissenschaften ausgeführte und durch Verleihung des Liebigstipendiums unterstützte Experimentaluntersuchung.

Herausgegeben

von

Geh. Med.-Rat Prof. R. Kobert,
Direktor des Institutes für Pharmakologie und physiol. Chemie
der Universität Rostock.

Zweites Heft.

Sonderabdruck aus: „Landwirtschaftliche Versuchs-Stationen" Bd. LXXXII.

BERLIN
VERLAGSBUCHHANDLUNG PAUL PAREY
Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwesen
SW. 11, Hedemannstraße 10 u. 11
1913.

Vorwort.

Auch bei den nachstehenden Arbeiten meines Institutes handelt es sich um den Nachweis und die biologischen Eigenschaften der giftigen und der ungiftigen Hämagglutinine. Es gelang zu zeigen, dass diese Stoffe auf verschiedene Kohlehydrate und Glykoside fermentative Wirkungen hydrolytischer Art ausüben, die theoretische und praktische Bedeutung haben. Einige Agglutinine vermögen sogar Harnstoff in Ammoniumkarbonat umzuwandeln. Die Ergebnisse aller dieser Versuche zusammengenommen berechtigen zu der Vermutung, ja machen es geradezu wahrscheinlich, dass auch die Giftwirkung des Rizins, Abrins und Crotins als eine Enzymwirkung aufzufassen ist. Leider erwies sich die Hoffnung, dass sich die fermentativen Wirkungen der giftigen Agglutinine auf chemisch reine Substanzen von denen der ungiftigen Phasine wesentlich unterscheiden würden, als irrig. Es scheint eben zum Wesen aller vegetabilischen Hämagglutinine zu gehören, dass sie z. B. auf Stärke verzuckernd und auf Amygdalin blausäureabspaltend einwirken. Auch in Samen, welche Hämolysine enthalten (Digitalis, Strophanthus, Feldrittersporn, Gartenmelde), sowie in den Samen der landläufigsten Pflanzen, die auf Futterkuchen verarbeitet werden, liessen sich Enzyme nachweisen, die einzelne Kohlehydrate und Glykoside hydrolysieren. Die Anwesenheit solcher Enzyme berechtigt daher keineswegs zu einem Schluss auf Hämagglutinine. Falls das Auspressen der Samen in der Hitze vorgenommen wird, oder falls durch den Akt des Pressens Hitze erzeugt wird, können die fermentativen Eigenschaften der Futterkuchen erheblich abgeschwächt werden. — Die Zerlegung des Rizins und Abrins in ein Toxin und ein Blutgift wurde von neuem als unmöglich

erwiesen; ein und dasselbe Molekül wirkt im Reagenzglas noch bei ausserordentlicher Verdünnung auf Blutkörperchen agglutinierend und im Tierkörper auf gewisse Gehirnzellen lähmend. Die Samen der mit Rizinus so nahe verwandten Jatropha Curcas enthalten ein dem Crotonöl verwandtes giftiges Öl und ein dem Rizin und Abrin verwandtes Gift, das Curcin. Dieses entbehrt in mässigen Dosen der giftigen Wirkungen auf Blutkörperchen, lähmt aber das Gehirn. Das Rizin, Crotin und Curcin sind also trotz der nahen Verwandtschaft der Stammpflanzen drei ganz verschiedene Gifte, und zwar steht das Crotin zwischen Rizin und Curcin. Die giftige Fettsäure des Curcasöles und die des Crotonöles lassen sich durch Froschversuche leicht nachweisen, während die Fettsäure des berüchtigten Marattifettes andere Giftwirkungen besitzt und durch Froschversuche überhaupt nicht erkannt werden kann. Für den Nachweis von Crotonöl und Curcasöl in Futterkuchen ist diese Tatsache natürlich von erheblicher praktischer Bedeutung.

Rostock, im August 1913.

R. Kobert.

Inhalt.

George Reid, Beiträge zur Kenntnis der chemischen Natur und des biologischen Verhaltens des Rizins.

Alfred Sommerfeld, Ein kurzer Beitrag zur Kenntnis der Wirkungen des Abrins.

Seite

Johannes Felke, Über die Giftstoffe der Samen von Jatropha Curcas.

Verzeichnis der Tabellen.

Über die fermentativen Eigenschaften der vegetabilischen Hämagglutinine und der Futterkuchen.

Von

Dr. med. IWAN L. WAKULENKO,

Dozent der Universität Tomsk in Sibirien.

Die in dem Kellner-Erinnerungsband der Landw. Versuchs-Stationen enthaltene Arbeit von Geh. Rat KOBERT wünschte dieser nach verschiedenen Richtungen hin wiederholt und erweitert zu haben. Er ist der Meinung, dass Blutversuche mit Agglutininen gar nicht oft genug wiederholt werden können. Erst dadurch, dass verschiedene Autoren die z. T. sehr beträchtliche agglutinierende Kraft dieser Stoffe bestätigen, wird bei den Lesern der berechtigte Zweifel, ob man nach dieser Methode diese Stoffe nachweisen kann, genommen werden. Weiter wünschte Geh. Rat KOBERT die in seiner Arbeit nur mit wenigen Worten gestreiften enzymatischen Kräfte der Phasinfällung recht verschiedener Samen, und zwar auch solcher, die keine agglutinierenden Wirkungen besitzen, systematisch durchgeprüft zu haben, da diese Enzymwirkungen für den Landwirt erhebliche Bedeutung haben, zurzeit aber noch so gut wie unbekannt sind. Ich habe diese enzymatischen Wirkungen auf einzelne Kohlehydrate, einzelne Glykoside und einige wenige Ester geprüft.

I. Über die Wirkungen zweier Präparate von Rizinuslipase.

1. Über die Wirkung dieser Lipasen auf Blut.

Es ist von Prof. KOBERT (1) festgestellt, dass die Rizinuslipase die Fähigkeit besitzt, verschiedene Blutarten zu agglutinieren.

Es sind mehrere Methoden für die Darstellung der Rizinuslipase vorgeschlagen. Prof. KOBERT hat für seine Versuche die Rizinuslipase nach der JALANDERschen und nach der TAYLORschen Methode benutzt.

Die Erhaltung der Rizinuslipase nach JALANDER (2) besteht, wie ich der Deutlichkeit wegen hier nochmals kurz erwähnen muss, in folgendem: 200 g Rizinussamen werden von ihren Schalen befreit und in einem Mörser mit 250 g Kottonöl zerrieben. Um die Mischung von den gröberen Teilen zu trennen, wird sie durch Leinwand gepresst und die erhaltene trübe Flüssigkeit auf einer Zentrifuge etwa 2 Stunden lang mit einer Schnelligkeit von 1000 Drehungen in 1 Minute zentrifugiert.

Die groben unwirksamen Teile der Mischung fallen dabei zu Boden und die lipolytisch wirkenden Substanzen gehen in die Aufschlämmung über. Gewöhnlich bekommt man 200—250 g Aufschlämmung, welche später mit Petroläther entfettet wird. JALANDER hat nach seiner Methode trockene Enzyme im Quantum von 2.5—3 % der genommenen Samen, Prof. KOBERT im Mittel nur 2.3 % erhalten.

Eine der Tabellen in KOBERTS Arbeit bietet einen Vergleich der Wirkung der nach JALANDER dargestellten Lipase und der entölten Samen.

Diese Tabelle zeigt deutlich, dass die Rizinuslipase die Fähigkeit besitzt, das Blut einiger Tierarten zu agglutinieren. Wenn solch eine Wirkung der Lipase nur vom Rizingehalt abhängen würde, so müssten die Lösungen der Lipase auf Tauben- und Meerschweinchenblut ganz gleich wirken, da die Empfindlichkeit beider Blutarten bezüglich des Rizins, wie Prof. KOBERT sich geäussert hat, dieselbe ist. Kleine Rizin- und Rizinuslipasendosen, wie Prof. KOBERT weiter bemerkt, agglutinieren das Ziegenblut nicht, grosse Dosen derselben Substanzen rufen Hämolyse hervor. Jedoch isolierte Ziegenblutkörperchen werden wie von Rizin so auch von Rizinuslipase agglutiniert. Das alles gibt Prof. KOBERT Veranlassung anzunehmen, dass „im JALANDERschen Präparate die Lipase mit Rizin innig verbunden ist, dass aber eine reine Rizinwirkung auf Blut sich nicht entfalten kann, sondern nur eine in unberechenbarer Weise modifizierte“. Der Versuch, die Lipase in reinem, rizinfreiem Zustande zu bekommen, ist Prof. KOBERT und auch NEUBERG (3), welcher es schon früher versucht hatte, nicht gelungen.

In einer anderen Reihe von Versuchen mit Blut extrahierte Kobert die zerriebenen Rizinussamen (Ricinus communis) mit Äther nach Taylor (4) und schüttelte nach einmaligem Filtrieren den Auszug mit physiologischer Kochsalzlösung durch. Der Äther wurde dann bei 33° C. verdunstet und die in der Kochsalzlösung nachgebliebene Lipase diente für die Versuche mit Blut, welche aber ein unbestimmtes Resultat gaben. „Nach Taylor bekam ich, schreibt Prof. Kobert, überhaupt nichts Greifbares."

Für meine Versuche mit Blut benutzte ich ein Lipasenpräparat, welches von Prof. Kobert nach Jalander dargestellt war. Der Gehalt der festen Bestandteile in diesem Präparat betrug 90.598 %, Asche 3.290 %. Für die Versuche nahm ich 1 g Lipasenpulver, zerrieb es in 100 ccm 0.9 %iger NaCl-Lösung und liess die Mischung einige Stunden auf dem Wasserbade bei 37° C. stehen. Die Mischung wurde für die Versuche stets frisch filtriert. Da ich die Grenze der totalen Agglutination im Blute verschiedener Tiere bestimmte, so musste der Auszug oft mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt werden.

Zugleich mit der Lipase nach Jalander untersuchte ich die Blutwirkung des Rizinuslipasenpräparates, welches nach der Methode von Falk und Nelson (5) hergestellt war. Die Herstellung dieses Präparats ist sehr einfach und raubt wenig Zeit. Die Rizinussamen werden mit Tetrachlorkohlenstoff oder Chloroform in einem Mörser zerrieben und extrahiert. Nach einigen Stunden wird die Mischung filtriert und der die Lipase enthaltende Rest mit den anderen Stoffen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur getrocknet, dann fein gemahlen und gesiebt. Für meine Versuche nahm ich 1 g von dem in dieser Weise bekommenen Pulver und zerrieb es mit 100 ccm physiologischer NaCl-Lösung. Im übrigen verfuhr ich ebenso, wie mit der nach Jalander hergestellten Lipase.

Ausser den Lipasenpräparaten nach Jalander und nach Nelson und Falk untersuchte ich die Blutwirkung der patentierten Rizinuslipase, bezogen von der hiesigen Seifenfabrik des Dr. Koch. Dieses Präparat wird bei der Seifenfabrikation von der genannten Firma mit ausgezeichnetem Erfolg seit vielen Jahren verwendet. Dem Äussern nach stellt es eine fette breiartige Masse vor. Zu meinen Versuchen nahm ich einige Gramm

von diesem Brei und entfettete ihn mit Äther. 1 g des entfetteten Präparats wurde mit 100 ccm 0.9 %iger NaCl-Lösung zerrieben und 18—24 Stunden im Wasserbade bei 37° extrahiert. Zu meinem Erstaunen fand ich, dass sowohl das Filtrat wie auch die Emulsion selbst Blut garnicht agglutinierten. Ob nun das Präparat etwa verdorben war, kann ich nicht sagen. Jedenfalls habe ich daraufhin nicht mehr damit gearbeitet.

Meine Versuche wurden alle mit 2 % Emulsion verschiedener Blutarten in physiologischer Kochsalzlösung angestellt.

Blutversuche mit Rizinuslipase nach JALANDER.

1. Meerschweinchenblut.

1. Versuch vom 2. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.087 mg Lipase) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Glas 1. 5 ccm 2 %iges Meerschweinchenblut + 5 ccm physiologische NaCl-Lösung als Kontrolle.

Glas 2. 5 ccm 2 %iges Meerschweinchenblut + 5 ccm Lipasenemulsion.

Glas 3. 5 ccm 2 %iges Meerschweinchenblut + 4 ccm Lipasenemulsion + 1 ccm physiologische NaCl-Lösung.

Glas 4. 5 ccm 2 %iges Meerschweinchenblut + 3 ccm Lipasenemulsion + 2 ccm physiologische NaCl-Lösung.

Glas 5. 5 ccm 2 %iges Meerschweinchenblut + 2 ccm Lipasenemulsion + 3 ccm physiologische NaCl-Lösung.

Glas 6. 5 ccm 2 %iges Meerschweinchenblut + 1 ccm Lipasenemulsion + 4 ccm physiologische NaCl-Lösung.

Nachmittags in NN II—VI totale Agglutination. Die Konzentration der Rizinuslipase in N VI beträgt 1:114536.

2. Versuch vom 14. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.087 mg Lipase) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieser Blutart beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:57268 (Glas 5).

3. Versuch vom 28. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.058 mg Lipase) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieser Blutart beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:85823 (Glas 5).

Im Mittel von meinen 3 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Meerschweinchenblutes bei einem Rizinuslipasengehalt in der Mischung von **1:85875.**

2. Taubenblut.

1. Versuch vom 9. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.436 mg Lipase) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:22683 (Glas 6).

2. Versuch vom 11. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.174 mg Lipase) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:11481 (Glas 2).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Taubenblutes bei einem Rizinuslipasengehalt in der Mischung von **1:17082.**

3. Menschenblut (plazentares).

1. Versuch vom 4. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.873 mg Lipase) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:11453 (Glas 6).

2. Versuch vom 8. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.174 mg Lipase) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:25832 (Glas 5).

3. Versuch vom 7. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.174 mg Lipase) + 2 %iges Menschenblut in der physiologischen NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:14353.

Im Mittel von meinen 3 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des plazentaren Menschenblutes bei einem Rizinuslipasengehalt in der Mischung von **1:17213.**

4. Schweineblut.

Versuch vom 7. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.873 mg Lipase) + 2 %iges Schweineblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Lipasengehalt in der Mischung von **1:5726** (Glas 5).

5. Kaninchenblut.

1. Versuch vom 2. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.873 mg Lipase) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:11453 (Glas 6).

2. Versuch vom 16. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.174 mg Lipase) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:14351 (Glas 3).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Rizinuslipasengehalt in der Mischung von **1:12852**.

6. Katzenblut.

Versuch vom 13. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.873 mg Lipase) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von **1:11453** (Glas 6).

7. Schildkrötenblut.

Versuch vom 14. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.873 mg Lipase) + 2 %iges Schildkrötenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Lipasengehalt in der Mischung von **1:5726** (Glas 6).

8. Rinderblut.

Versuch vom 14. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 8.731 mg Lipase) + 2 %iges Rinderblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Lipasengehalt in der Mischung von **1:229** (Glas 2).

Versuch vom 15. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 8.731 mg Lipase) + 2 %iges Rinderblut in physiologischer NaCl-Lösung. Diesmal trat keine deutliche Agglutination ein. Gerade bei Rinderblut versagt der Versuch auch mit manchen Phasinen gelegentlich.

Bei Versuchen mit Pferde-, Hammel- und Hühnerblut erhielt ich stets ein negatives Resultat.

Diese meine Versuche zeigen, dass bei meinen wie bei Koberts Versuchen die Jalandersche Lipase auf Blut von Pferd, Hammel, Huhn gar nicht und auf Rinderblut ebenfalls nicht immer agglutinierend einwirkt. Bei den andern angeführten Blutarten liess sich stets eine agglutinierende Wirkung nachweisen, die sowohl bei Kobert als bei mir für Meerschweinchenblut sehr stark, für Taubenblut aber schwächer und für die andern Blutarten noch schwächer war.

Blutversuche mit Rizinuslipase nach Nelson und Falk.

1. Meerschweinchenblut.

1. Versuch vom 9. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.025 mg entfettete Samen) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:100000 (Glas 3). Als Lipase ist hier das entfettete Samenpulver gerechnet.

2. Versuch vom 14. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.02 mg entfettete Samen) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:125000 (Glas 3).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Meerschweinchenbluts beim Rizinuslipasegehalt in der Mischung von **1:112000.**

2. Taubenblut.

1. Versuch vom 9. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.025 mg entfettete Samen) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:80000 (Glas 2).

2. Versuch vom 14. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.02 mg entfettete Samen) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:125000 (Glas 3).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Taubenbluts bei einem Rizinuslipasengehalt in der Mischung von **1:104166.**

3. Menschenblut (plazentares).

1. Versuch vom 4. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.2 mg entfettete Samen) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:16666 (Glas 4).

2. Versuch vom 7. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.1 mg entfettete Samen) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:33333 (Glas 4).

3. Versuch vom 8. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.2 mg entfettete Samen) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:25000 (Glas 5).

Im Mittel von meinen 3 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des plazentaren Menschenblutes beim Rizinuslipasengehalt in der Mischung von **1:27766.**

4. Schweineblut.

Versuch vom 7. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 10.0 mg entfettete Samen) + 2 %iges Schweineblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Schweineblutes bei einem Lipasengehalt der Mischung von **1:1000** (Glas 6).

5. Kaninchenblut.

1. Versuch vom 2. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.1 mg entfettete Samen) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:25000 (Glas 3).

2. Versuch vom 16. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.1 mg entfettete Samen) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Lipasengehalt in der Mischung von 1:33333 (Glas 4).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Rizinuslipasengehalt der Mischung von **1:29166.**

6. Katzenblut.

Versuch vom 13. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 0.2 mg entfettete Samen) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Katzenblutes bei einem Lipasengehalt der Mischung von **1:16666** (Glas 4).

7. Schildkrötenblut.

Versuch vom 14. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 1.0 mg entfettete Samen) + 2 %iges Schildkrötenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Schildkrötenblutes bei einem Lipasengehalt in der Mischung von **1:10000** (Glas 6).

8. Rinderblut.

Versuch vom 15. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 1.0 mg entfettete Samen) + 2 %iges Rinderblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Rinderblutes bei einem Lipasengehalt der Mischung von **1:2500** (Glas 3).

9. Pferdeblut.

Versuch vom 7. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 1.0 mg entfettete Samen) + 2 %iges Pferdeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Pferdeblutes bei einem Lipasengehalt der Mischung von **1:3333** (Glas 4).

10. Hammelblut.

Versuch vom 15. November 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 1.0 mg entfettete Samen) + 2 %iges Hammelblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hammelblutes bei einem Lipasengehalt der Mischung von **1:2500** (Glas 3).

11. Hühnerblut.

Versuch vom 21. Oktober 1912. Lipasenemulsion (1 ccm = 1.0 mg entfettete Samen) + 2 %iges Hühnerblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hühnerblutes bei einem Lipasengehalt der Mischung von **1:10000** (Glas 6).

Die Tabelle I, S. 10, welche auf Grund der eben angeführten Protokolle aufgestellt ist, zeigt übersichtlich die Grenze der Konzentrationen der beiden Lipasen in der Mischung, bei welchen totale Agglutination verschiedener Blutarten beobachtet wurde.

Für Meerschweinchen-, Kaninchen-, Menschen- und Taubenblut sind in der Tabelle nur die Durchschnittszahlen angegeben. Einen Vergleich der Wirkung der nach JALANDER und nach NELSON und FALK dargestellten Lipasen bringt Tab. I.

Tabelle I.

No.	Blutart:	Totale Agglutination erfolgt durch	
		Lipase (JALANDER) bei 1:	Lipase (NELSON u. FALK) bei 1:
1	Meerschweinchenblut	85 875	112 000
2	Menschenblut	17 213	27 766
3	Taubenblut	17 082	104 166
4	Kaninchenblut	12 852	29 166
5	Katzenblut	11 453	16 166
6	Schildkrötenblut	5 726	10 000
7	Schweineblut	5 726	1 000
8	Rinderblut	229	2 500
9	Pferdeblut	ohne Wirkung	3 333
10	Hammelblut	„ „	2 500
11	Hühnerblut	„ „	10 000

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, dass das wirklich reine JALANDERsche Präparat viel schwächer agglutiniert als das von NELSON und FALK, welches ja in Wirklichkeit gar keine gereinigte Lipase, sondern nur entfettetes Samenpulver darstellt. Mein nach der Methode von NELSON und FALK bereitetes Präparat agglutinierte alle von mir untersuchten Blutarten ohne Ausnahme, also auch Pferde-, Hammel- und Hühnerblut. Meerschweinchen- und Taubenblut hatten in bezug auf die Lipase eine fast gleiche Empfindlichkeit. Im ganzen stimmen meine Resultate der Versuche mit Rizinuslipase nach FALK und NELSON mit den Versuchen mit entfetteten Rizinussamen von KOBERT. Dies war auch gar nicht anders zu erwarten, da dieses Rizinuspräparat eben nur entfettetes Rizinussamenpulver vorstellt.

Ausser den angeführten Versuchen habe ich noch einige mit den Filtraten der Lösungen der beiden Lipasen nach Fällung mit Alkohol angestellt. Zu diesem Zwecke wurde die 1 %ige Lipasenemulsion filtriert und das Filtrat mit 2—3 Volumen 96 %igem Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde nach 20—25 Minuten mit einer Wasserstrahlpumpe abgesogen, der Niederschlag sofort

mit physiologischer Kochsalzlösung in einem Mörser zerrieben, einige Stunden bei 37° stehen gelassen und später der unlösliche Teil abfiltriert. Hier bemerke ich, dass der Niederschlag nach Fällung mit Alkohol in dem gleichen Quantum 0.9 %iger Na Cl-Lösung aufgelöst wurde, so dass das Filtrat bis zur Fällung mit Alkohol und die Lösung des mit Alkohol erfolgten Niederschlages dieselbe Konzentration hatten.

Die Blutversuche bewiesen, dass die agglutinierende Fähigkeit der beiden Lipasen unverändert bleibt, falls der Alkoholeinfluss auf sie nur kurze Zeit dauert.

2. Spaltungsversuche mit Rizinuslipase nach Jalander sowie nach Falk und Nelson an Kohlehydraten.

a) Umwandlung von Stärke.

Enzyme, welche Stärke und andere ähnliche Polysaccharide (Glykogen) in Maltose und Dextrine umwandeln, d. h. sogenannte Diastasen, Amylasen oder Malto-Amylasen, sind weit verbreitet im Pflanzenreich. Schon vor langer Zeit haben Payen und Persoz als erste in der keimenden Gerste ein die Stärke verzuckerndes Enzym entdeckt, welches sie Diastase benannten. Die Untersuchungen von anderen Gelehrten haben weiter gezeigt, dass auch mehrere andere keimende Samen solch ein Enzym enthalten. So hat Klempin (6) ein diastatisches Enzym in keimenden Hafersamen gefunden, Bialosuknia (7) in den keimenden Samen von Papilionaceen (Trifolium pratense, Trifolium repens, Trifolium hybridum, Ornithopus sativus) und Gramineen (Phleum pratense, Lolium perenne, Poa pratensis, Alopecurus pratensis, Agrostis stolonifera, Avena elatior, Avena sativa, Hordeum distichum, Secale cereale, Panicum und Triticum pratense), Payen und Persoz (8) in Kartoffelknollen, Weizen, Mais, Reis, Gorup-Besanez (9) in Wickensamen. Ruhende Samen — und nur von solchen rede ich im nachstehenden — enthalten nach Kjeldahl (10) auch Amylase, aber in geringen Mengen. Nach Brown und Morris (11) sind Schösslinge und Blätter von Leguminosen und Gräsern reich an Amylasen. Baranezki (12), Brasse (13), Butkewitsch (14) haben die Gegenwart der Amylase in Samen, Knollen, Blättern, Rinde, Wurzeln sehr vieler Pflanzen nachgewiesen (Robinia Pseudacacia, Caragana arborescens, Sophora japonica, Populus nigra, Tabak, Rizinus usw. A. Scheunert und

W. GRIMMER (15) fanden Amylase in den austreibenden Knollen der Kartoffel, in Buchweizen, Wicken, Pferdebohnen, in dem Wiesenheu, in den Lupinenkörnern und im Roggenstroh, REINITZER (16) in Akaziengummi, GONNERMANN (17) in Zuckerrüben (Beta vulgaris), SAIKI (18) im Rettig (Raphanus sativus *L.*), TAYLOR (4) in Rizinussamen. Diastasen sind weiter in vielen Vertretern der Kryptogamen (Algen, Pilzen usw.) entdeckt.

Die chemische Natur der Diastase ist noch nicht gänzlich aufgeklärt. WROBLEWSKI (19) zählt sie den Eiweisskörpern (Albumosen) zu. FRÄNKEL und HAMBURG (20) dagegen erhielten ein sehr wirksames Diastasenpräparat, welches von allen Eiweissreaktionen eine äusserst schwache MILLONsche Reaktion und schwache Pentosenreaktion gab. Aus den Fällungslösungen der Kolloide wurde das Präparat nur durch kolloidales Eisenoxyd gefällt. Durch fraktionierte Dialyse ist es den Autoren gelungen, aus der Diastase zwei Enzyme zu erhalten: ein verflüssigendes und ein verzuckerndes. Das erste dialysiert nicht, das zweite dialysiert. BROWN und MORRIS (11) haben noch vor FRÄNKEL und HAMBURG die Vermutung ausgesprochen, dass es im Pflanzenreich nicht nur eine, sondern mehrere Diastasen gibt. Sie unterscheiden Sekretionsdiastase und Translokationsdiastase. Die erste befindet sich in keimenden, die zweite in ruhenden Samen und auch in anderen pflanzlichen Organen. Die Sekretionsdiastase verflüssigt schnell Stärkekleister und löst die Stärkekörner ziemlich leicht, indem sie zuerst quellen und später zerbröckeln. Die Translokationsdiastase wirkt rasch auf lösliche Stärke, löst die Stärkekörner, aber ohne ein vorheriges Quellen. Auf Stärkekleister wirkt sie langsamer. Der weitere Unterschied dieser beiden amylolytischen Enzyme besteht darin, dass das Optimum der Wirkung der Sekretionsdiastase bei 55°, dasjenige der Translokationsdiastase bei 45° liegt. Die Voraussetzung von BROWN und MORRIS über die Existenz mehrerer Diastasen ist durch die Untersuchungen von L. MAQUENNE und E. ROUX (21) bestätigt worden. Aus den Versuchen von BUTKEWITSCH (4) mit der amylolytischen Wirkung der Auszüge aus Rinde und einigen anderen pflanzlichen Organen (Robinia Pseudacacia, Caragana arborescens und andere) ist auch zu sehen, dass der Auszug zwei verschiedene Enzyme enthält — ein verflüssigendes und ein verzuckerndes, und dass die zuckerbildenden und flüssigmachenden Wirkungen der Amylasen nebeneinander auftreten.

Nach diesen allgemeinen Bemerkungen gehe ich auf die Beschreibung meiner Versuche mit amylolytischer Wirkung der Rizinuslipase nach JALANDER und nach NELSON und FALK über.

Zu den Versuchen mit Stärkeumwandlung, wie auch zu den Blutversuchen nahm ich 1 % Rizinuslipasenemulsion und untersuchte ihre amylolytische Wirkung und ebenso die amylolytische Wirkung der Filtrate vor und nach der Fällung mit Alkohol. Die Versuche wurden mit 0.1 %igem Kartoffelstärkekleister angestellt. In ein Probierglas wurden 5 ccm 0.1 %iger Stärkekleister + 5 ccm Lipasenemulsion oder ihr Filtrat hineingegossen. Als Antiseptikum fügte ich, da Fäulnis und Schimmelbildung ja unbedingt ausgeschlossen werden musste, zur Mischung immer Toluol hinzu und zwar in solcher Menge, dass das letztere die Flüssigkeit im Probierglase nicht nur sättigte, sondern auch noch mit einer ziemlich dicken Schicht bedeckte. Weiter wurde die Mischung durchgemischt, die Probiergläser mit Watte verstopft und im Wasserbade bei 37—38° stehen gelassen. Selbstverständlich wurde auch immer eine Kontrollprobe angestellt (5 ccm Stärkekleister + 5 ccm destilliertes Wasser). Nach einigen Stunden wurde der Gehalt der Probiergläser qualitativ auf Zucker mit FEHLINGscher Lösung untersucht. In den Fällen, wo bei Körpertemperatur die Stärkeumwandlung in Zucker nach 24 Stunden nicht erfolgte, wurden die Probiergläser allmählich im Wasserbade bis 65—70° erhitzt und dann bei dieser Temperatur 2—3 Stunden stehen gelassen, wonach der Gehalt wieder auf Zucker untersucht wurde. Das Resultat wurde als positiv angenommen, wenn die entsprechende Reaktion nur im Probierglase mit der Mischung von Kohlehydrat und Ferment erhalten wurde, aber in der Kontrollprobe vollständig fehlte. Wenn die Reaktion mit der FEHLINGschen Lösung in beiden Proben ein positives Resultat zeigte, so wurde dem Versuch keine Bedeutung zuerkannt.

Versuche mit unfiltrierter Rizinussamenemulsion.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm 1 %ige Lipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm 1 %ige Lipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 38° gaben nach 24 Stunden Glas 1 keine Spur von Zucker, Gläser 2 und 3 eine deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung und keine Reaktion mit Jod.

Die Versuche 2, 3, 4, 5, 6 und 7, welche bei gleichen Bedingungen angestellt waren, gaben dasselbe Resultat.

Beim Erhöhen der Temperatur bis 65—70° wurde die Wirkung der Enzyme auf Stärke bedeutend beschleunigt, was aus folgenden Versuchen zu ersehen ist.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm 1 %ige Lipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm 1 %ige Lipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 65—70° gaben nach 2½ Stunden Glas 1 keine Spur von Spaltung, Gläser 2 und 3 eine deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung und keine Reaktion mit Jod.

Die Versuche 2, 3, 4 und 5 gaben dasselbe Resultat.

Rizinussamenemulsion wirkt also unzweifelhaft zuckerbildend auf Kartoffelstärkekleister ein.

Versuche mit dem Filtrat der Rizinuslipasenemulsion.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 38° gaben nach 24 Stunden Gläser 2 und 3 deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung und keine Reaktion mit Jod. Die Kontrolle gab nach 24 Stunden keine Spur von Spaltung.

Die Versuche 2, 3, 4, 5 und 6 gaben dasselbe Resultat.

Beim Erhöhen der Temperatur wurde die Wirkung des Ferments beschleunigt.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 38° gaben nach 2 Stunden Gläser 2 und 3 eine deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung und keine Reaktion mit Jod. Die Kontrolle gab bei 60—70° nach 2 Stunden keine Spur von Zucker.

Die Versuche 2, 3 und 4 gaben dasselbe Resultat.

Demnach ist es klar, dass auch die Filtrate der Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER und nach NELSON und FALK Amylase enthalten.

Versuche mit den Filtraten nach Fällung mit Alkohol.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.1 %iger Kartoffelstärkekleister + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 38° gaben nach 24 Stunden Gläser 2 und 3 eine sehr schwache Reaktion mit Fehlingscher Lösung und eine deutliche Reaktion mit Jod. Die Kontrolle gab nach 24 Stunden keine Spur von Zucker. Nach Erhitzen dieser Proben im Wasserbade auf 65—70° binnen 3 Stunden verstärkte sich die Reaktion mit der Fehlingschen Lösung auf Zucker in den Gläsern 2 und 3 und die Mischung gab dann keine Reaktion mit Jod.

Dasselbe Resultat gaben auch die Versuche 2 und 3.

Alle meine Versuche über Stärkeumwandlung geben die Berechtigung, den Schluss zu ziehen, dass die Rizinuslipase nach Jalander und nach Falk und Nelson Amylase enthält, welche 0.1 %igen Kartoffelstärkekleister bei Körpertemperatur und sehr schnell bei 65—70° verzuckert, dass wie die Rizinusemulsion so auch ihr Filtrat ganz gleich auf Stärke wirken und dass die amylolytische Fähigkeit des Filtrats nach Fällung mit Alkohol zwar sinkt, aber nicht ganz verloren geht.

b) Umwandlung von Glykogen.

Zu meinen Versuchen habe ich 0.1 %ige Glykogenlösung genommen. Die Versuche wurden mit unfiltrierter 1 %iger Rizinusemulsion nach Jalander und nach Nelson und Falk angestellt.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.1 %ige Glykogenlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.1 %ige Glykogenlösung + 5 ccm 1 %ige Rizinuslipasenemulsion nach Jalander. Glas 3, 5 ccm 0.1 %ige Glykogenlösung + 5 ccm 1 %ige Rizinuslipasenemulsion nach Falk und Nelson.

Bei 37° gaben nach 24 Stunden Gläser 1 und 3 keine Reaktion mit der Fehlingschen Lösung. Nach dreistündigem Erhitzen der Probiergläser im Wasserbade gab Glas 2 eine Reaktion mit Fehlingscher Lösung, Gläser 1 und 3 gaben keine Spur von Zucker.

Dasselbe Resultat gaben auch die Versuche 2, 3 und 4.

Die Rizinuslipase nach Jalander enthält also auch ein glykogenverdauendes Enzym, während solches im Lipasenpräparat nach Falk und Nelson nicht nachweisbar war.

c) Umwandlung von Inulin.

Das Kohlehydrat Inulin, als Reservestoff, kommt in vielen Pflanzen vor. Das Enzym Inulase oder Inulinase, welches dies begleitet, wandelt das Inulin in Fruktose um. Stärke wird durch die Inulinase nicht angegriffen.

R. Green (22) entdeckte dieses Enzym, welches in vielen Kompositen vorkommt, in den Knollen von Helianthus tuberosus. Bourquelot (23) fand Inulinase in Aspergillus niger und isolierte sie von dem Myzelium dieses Pilzes. Das Enzym scheint weit

verbreitet zu sein in den Eumyzeten. DEAN (24) fand es auch in Penicillium glaucum. Das beste Mittel, seine Wirksamkeit zu erhöhen, ist 0.001 % Salzsäure.

Bei meinen Versuchen brauchte ich das Inulinpräparat von BAYER & Co. (Elberfeld), dessen Lösungen mit dem FEHLINGschen Reaktiv nur Spuren von Zucker gaben.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.1 %ige Inulinlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.1 %ige Inulinlösung + 5 ccm unfiltr. Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.1 %ige Inulinlösung + 5 ccm unfiltr. Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 37° gaben nach 24 Stunden Gläser 1—3 nur Spuren von Zucker. Bei 65—70° gaben nach 2 Stunden Glas 2 eine deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung, Gläser 1 und 3 nur Spuren von Zucker.

Versuche 2, 3, 4 und 5 gaben dasselbe Resultat.

Folglich kann man auf Grund meiner Versuche annehmen, dass die Rizinuslipase nach JALANDER ein inulinverdauendes Enzym enthält.

d) Invertierung von Rohrzucker.

Die Tatsache ist schon lange bekannt, dass Rohrzucker unter der Hefenwirkung in den sogenannten Invertzucker umgewandelt wird. Der letztere besteht aus einem Molekül rechtsdrehender Glykose und einem Molekül linksdrehender Fruktose. Im Jahre 1860 erhielt BERTHELOT (25) als Erster aus der Hefe Invertase in trockenem Zustande. OSBORNE (26) untersuchte die chemische Zusammensetzung der Invertase genau. Sein Präparat war eine Eiweisssubstanz und enthielt eine Beimischung von Kohlehydrat. Nach OSHIMA (27) ist dieses Kohlehydrat ein Methylpentosan. Durch Kupferazetat war es ihm gelungen, eine kohlehydratfreie Invertase zu bekommen. Nach HARTLEY (28) unterscheidet die Invertase sich von den Eiweisssubstanzen spektroskopisch. Nach den Untersuchungen von FISCHER (29) und ebenso nach KALANTHAR (30) enthalten fast alle Hefen Invertase und oft daneben Maltase oder Laktase. Einige Hefen aber, z. B. Saccharomyces martianus, enthalten nur eine Invertase, in anderen Hefen aber dagegen fehlt sie ganz. Hierher gehören: Schizo-Saccharomyces octosporus, Saccharomyces apiculatus, die meisten Torulaceen und einige andere. WASSERZUG (31) fand Invertase in Pilzen der Gattung Fusarium während der Konidienbildung, M. FERNBACH (32) in Aspergillus niger, J. SANGUINETTI (33) in Aspergillus Oryzae. H. PRINGSHEIM und G. ZEMPLÉN (34) fanden

Invertase in einer ganzen Reihe anderer Schimmelpilze: Mucor Mucedo, Mucor corymbifer, Mucor rhizopodiformis, Mucor racemosus und Hyphomyces rasellus. Mucor alternans, Mucor circinelloides und einige andere enthalten keine Invertase (H. Gayon und E. Dubourc) (35). J. Laborde (36) entdeckte Invertase in Eurotiopsis Gayoni, G. Lenossier und E. Roux (37) bei den Soorpilzen, Buchner und Meisenheimer (38) im Presssafte der Moniliahefe (Monilia candida). Die Invertase scheint auch unter den Phanerogamen weit verbreitet zu sein. So fanden Brown und Heron (39) im Malzextrakt Invertase, O'Sullivan (40) in Wurzeln, Stengeln, Blättern von Gramineen (Weizen, Erbsen und Mais), Stoklasa, Jelinek u. Vitek (41) in Zuckerrübe, Taylor (4) in Rizinussamen, F. Scuti und A. Parrozzani (42) in Krotonsamen. O. Remeaud (43) entdeckte Invertase in Blättern vieler Pflanzen der Familie der Ranunculaceen: Clematis vitalba *L.*, Anemone Pulsatilla *L.* und nemorosa *L.*, Ranunculus fluitans *Lam.*, Ranunculus repens und Ranunculus bulbosus, Ficaria ranunculoides *Moench.*, Caltha palustris *L.*, Helleborus foetidus *L.*, Aquilegia vulgaris *L.*, Delphinium elatum, Paeonia officinalis *L.* L. E. Bourquelot (44) fand Invertase in Wurzeln, Knollen, Rinde und Samen einiger Vertreter aus 24 Familien der Phanerogamen: Acer pseudoplatanus *L.*, Aesculus Hippocastanum *L.*, Ailanthus glandulosa *Desf.*, Buxus sempervirens usw. V. Martinaud (45) fand Invertase in allen Teilen des Weinstockes. Eine Invertase ist in den Kirschen, in den Johannisbeeren enthalten; sehr wenig wurde in den Birnen. gar keine in den Äpfeln und in den Apfelsinen gefunden.

Zu meinen Versuchen nahm ich 0.2 %ige Rohrzuckerlösung und untersuchte die invertierende Wirkung der unfiltrierten Rizinuslipasenemulsion und ebenso die ihres Filtrates vor und nach ihrer Fällung mit Alkohol.

Versuche mit unfiltrierter Rizinuslipasenemulsion.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm Rizinuslipasenemulsion nach Jalander. Glas 3, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm Rizinuslipasenemulsion nach Falk und Nelson.

Bei 37° gaben Gläser 1—3 nach 24 Stunden keine Reaktion mit Fehlingscher Lösung. Bei 65—70° zeigten Gläser 1—3 nach $2^1/_2$ Stunden nur Spuren von Invertzucker, Glas 2 gab eine deutliche Reaktion mit Fehlingscher Lösung.

In den Versuchen 2, 3, 4 und 5, wie auch im Versuch 1, gaben Gläser 1—3 bei Körpertemperatur keine Reaktion mit FEHLINGscher Lösung. Nach $1^1/_2$—$2^1/_2$stündigem Erhitzen im Wasserbade bis 65—70° enthielten Gläser 1 und 3 immer nur Spuren von Zucker, Glas 2 dagegen gab eine deutliche Reaktion auf Zucker mit FEHLINGscher Lösung.

Versuche mit dem Filtrat der Rizinuslipasenemulsion.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 37° gaben Gläser 1—3 nach 24 Stunden keine Reaktion mit FEHLINGscher Lösung. Bei 65—70° zeigten Glas 2 eine deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung, Gläser 1 und 3 enthielten nur eine Spur von Zucker.

Versuche mit dem Filtrat nach Fällung mit Alkohol.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 0.2 %ige Rohrzuckerlösung + 5 ccm Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 65—70° gaben Gläser 1 und 3 nach 3 Stunden Spuren von Zucker, Glas 1 eine deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung.

Die Versuche zeigen also, dass die Rizinuslipase nach JALANDER auch Invertase enthält. Aus den Versuchen ist weiter zu sehen, dass nicht nur die Rizinuslipasenemulsion, sondern auch ihr Filtrat sowohl vor wie nach der Fällung mit Alkohol eine invertierende Fähigkeit zeigen. Diese Fähigkeit tritt aber nur beim Erhöhen der Temperatur bis 65—70° hervor. Mit dem Rizinuslipasenpräparat nach FALK und NELSON konnte ich keine Invertasenwirkung erzielen.

Weitere Untersuchungen mit den Rizinuslipasenpräparaten nach JALANDER und auch nach FALK und NELSON auf Maltase- und Endotrypsingehalt gaben ein negatives Resultat.

Alle von mir erhaltenen Resultate betreffs der Wirkung der Rizinuslipase auf Kohlehydrate und Fibrin sind in der Tabelle II zusammengefasst.

(Siehe die Tabelle II auf S. 19.)

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, dass die Rizinuslipase nach JALANDER Stärke bei Körpertemperatur umwandeln kann, aber Glykogen, Inulin und Rohrzucker nur beim Erhitzen der Mischung bis 65—70°. Eben diese JALAN-

dersche Rizinuslipase scheint aber kein Traubenzucker-, Milchzucker- und kein fibrinverdauendes Enzym zu enthalten. Die Rizinuslipase nach Falk und Nelson wandelt Stärke bei Körpertemperatur um, scheint aber keine Wirkung auf Glykogen, Inulin zu haben. Auch Traubenzucker, Milchzucker und Fibrin greift sie nicht an. Die bisherige Annahme, dass die Rizinuslipase nur Fette spalte bezw. wieder aufbaue, ist also nicht richtig.

Tabelle II.

Rizinuslipase	Stärke	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Traubenzucker	Milchzucker	Fibrin
nach Jalander	verzuckert (bei 37 °)	verzuckert (bei 65—70 °)	verzuckert (bei 65—70 °)	invertiert (bei 65—70 °)	—	—	—
nach Falk und Nelson	verzuckert (bei 37 °)	wird nicht verzuckert	wird nicht verzuckert	wird nicht invertiert	—	—	—

3. Spaltungsversuche mit den Rizinuslipasen an Glykosiden.

Eine sehr wichtige Gruppe pflanzlicher Enzyme bilden die glykosidzerlegenden Enzyme. Sie finden sich sehr oft in Pflanzen neben Glykosiden, zu deren hydrolytischer Spaltung sie besonders geeignet sind. So enthält der schwarze Senf neben dem Glykosid Sinigrin das Enzym Myrosin, die bittere Mandel neben dem Glykosid Amygdalin das Enzym Emulsin, das Löffelkraut neben Löffelkrautglykosid das Löffelkrautenzym usw. Wenn man die Glykoside in ähnlicher Weise betrachtet wie die Kohlehydratspeicherung in den pflanzlichen Organismen, dann ist es klar, dass die glykosidbildenden Pflanzen solch ein Enzym haben müssen, welches nötigenfalls Glykoside zerstören, d. h. zerlegen und aus ihnen den Zucker abspalten kann. In der letzten Zeit sind Pflanzen gefunden, welche nur glykosidzerlegende Enzyme enthalten und keine entsprechenden Glykoside. Es ist nicht klar, zu welchem Zwecke solche Pflanzen glykosidzerlegende Enzyme bilden.

a) Spaltung von Amygdalin.

Unter dem Namen Amygdalase, Synaptase oder Emulsin ist das Enzym bekannt, welches Amygdalin in Glykose, Benzaldehyd und Blausäure spaltet. Dieses Emulsin findet sich in einigen Hefen, vielen Pilzen und hauptsächlich bei den auf Holz

lebenden: Polyporus sulfureus, Polyporus applanatus, Polyporus squamosus und anderen (BOURQUELOT) (46). Einige Schimmelpilze, z. B. Aspergillus niger (E. BOURQUELOT und HERISSEY) (47) zerlegen Amygdalin ähnlich wie Emulsin. G. HEUT (48) fand dasselbe bei den Versuchen mit Polyporus Clusianus, Poltigera horizontalis, Cladonia delicata usw. Nach HERISSEY (49) zerlegen Cladonia pyxidata, Evernia furfuracea und einige andere Flechten Amygdalin. Weit verbreitet ist das Emulsin auch unter den Phanerogamen. LUTZ (50) beobachtete es in den Samen von Malus Cydonia, Sorbus und Eriobothrya (Pomaceen), HERISSEY (49) in den Samen von Malus communis, Sorbus latifolia, Cydonia vulgaris und Eriobothrya japonica, in den Rinden von Juniperus communis und einigen anderen. E. BOURQUELOT und HERISSEY (51) fanden es in den Samen von Rosaceen (Amygdalis amara, Amygdalis Persica, Prunus armeniaca, Prunus laurocerasus), L. GUIGNARD (52) in den Blättern von Sambucus nigra *L.*, von Sambucus racemosa, bei Ribes rubrum, Ribes nigrum, bei den Orchideen. L. VAN ITALLIE (53) fand Amygdalase in den Blättern von Thalictrum aquilegifolium, G. BERTRAND und L. RIVKIND (54) in den Samenkörnern der meisten Hülsengewächse (Vicia angustifolia, Vicia villosa und anderen). H. E. ARMSTRONG, E. F. ARMSTRONG und E. HORTEN (55) erhielten aus Blättern von Prunus laurocerasus ein Enzym, welches Amygdalin nicht angreift, aber FISCHERS Glykosid (Prunasin) in Glykose und Benzaldehydcyanhydrin spaltet. Diesem Enzym geben die Autoren die Benennung Prunase. Die Entdeckung der Prunase bestätigt nach ihrer Meinung die schon längst ausgesprochene Voraussetzung, dass die Spaltung von Amygdalin in Glykose und Benzaldehydcyanhydrin durch Mandelemulsion von der Wirkung zweier verschiedener Enzyme abhängt. Das eine, welches die Autoren vorschlagen Amygdalase zu nennen, spaltet Amygdalin in Glykose und Prunasin, das zweite, Prunase, spaltet Prunasin weiter in Glykose und Benzaldehydcyanhydrin. Dieselben Autoren fanden Amygdalase in den Samen von Prunus laurocerasus und Laurus lusitanica. Die Prunase ist von ihnen in vielen Pflanzen und hauptsächlich in Prunus laurocerasus, Laurus lusitanica, Aucuba japonica und in anderen gefunden. Nach H. E. ARMSTRONG und J. VORGAS (56) gaben die Blätter und Samen von etwa 60 verschiedenen Spezies aus der Familie der Linaceen in bezug auf Amygdalingehalt ein negatives Resultat.

Nun gehe ich auf meine Versuche über. Zu meinen Versuchen brauchte ich 1 % wässerige Glykosidlösungen. In ein Probierglas wurden 5 ccm Glykosidlösung + 5 ccm Rizinuslipasenemulsion resp. des Auszugs der zu untersuchenden Samen oder Rinde gegossen. Ins andere 5 ccm von derselben Glykosidlösung + 5 ccm dest. Wasser zur Kontrolle. Als Antisepticum nahm ich Toluol. Beide Probiergläser wurden dann auf einige Stunden im Wasserbade bei 37—38° stehen gelassen. Darauf wurde der Gehalt der Probiergläser quantitativ auf die Zersetzungsprodukte des für die Versuche genommenen Glykosids untersucht. In den Fällen, wo bei 37—38° das Glykosid unter der Wirkung des Auszugs nicht zerlegt wurde, wurden, wie auch in den Versuchen mit Kohlehydraten, die Probiergläser ins Wasser gestellt und allmählich bis 65—70° erhitzt, bei dieser Temperatur 15 Minuten bis 2 Stunden stehen gelassen und der Gehalt der Probiergläser wieder untersucht.

In den Spaltungsversuchen mit Amygdalin konnte man, wenn das Resultat positiv war, immer einen ziemlich starken Geruch nach bitteren Mandeln bemerken. Die Konstatierung dieses Geruches befriedigte mich aber nicht; ich machte immer auch noch die Guajakonsäurekupfersulfatreaktion. Zu dieser Reaktion benutzte ich Filtrierpapierstreifen, welche mit genanntem Reagens angefeuchtet und vorsichtig ins Probierglas gelassen wurden, dabei aber so, dass das Papier die Wände des Probierglases nicht berührte, also frei herunter hing. Die Probiergläser wurden mit Watte verstopft. In dem Falle, wo sich Blausäure bildete, bläut sich das Papier rasch und nach Hinzufügung von Guajakonsäure und Kupfersulfatlösung zeigt der Inhalt solcher Probiergläser eine blaue Farbe von verschiedener Intensität, abhängig von dem Quantum der gebildeten Blausäure. In den Fällen, wo die Mischung keine klare Reaktion auf Blausäure gab, destillierte ich sie ab und machte mit dem Destillat die Guajakonkupfersulfatreaktion.

Zu meinem Versuche benutzte ich das Amygdalinpräparat von E. Merck.

Versuche mit Rizinuslipase nach Jalander.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 1 %ige Amygdalinlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 1 %ige Amygdalinlösung + 5 ccm unfiltr. 1 %ige Rizinuslipasenemulsion. Glas 3, 5 ccm 1 %ige Amygdalinlösung + 5 ccm unfiltr. 1 %ige Rizinuslipasenemulsion + 3 Tropfen verd.

Essigsäure. Glas 4: 5 ccm 1 %ige Amygdalinlösung + 5 ccm unfiltr. 1 %ige Rizinuslipasenemulsion + 3 Tropfen verd. Schwefelsäure.

Bei 38° gaben nach 72 Stunden Gläser 1—4 keine Spuren von Spaltung. Bei 65—70° nach 20 Min. gaben Glas 2 eine deutliche Bläuung des Papiers, Gläser 1, 3 und 4 keine Bläuung des Papiers. Nach Zusatz von Guajakonsäurekupfersulfatlösung gaben Gläser 1 und 4 nur Spuren Bläuung, Glas 3 eine schwache, Glas 2 deutliche Bläuung.

Versuche 2, 3, 4 und 5 mit unfiltr. Rizinuslipasenemulsion, ebenso mit dem Filtrat und mit Rizinuslipase nach FALK und NELSON gaben dasselbe Resultat.

Amygdalin wird also durch Rizinuslipase hydrolytisch zerlegt.

b) Spaltung von Salizin.

Das Salizin wurde von LEROUX im Jahre 1830 in der Rinde vieler Weidenarten entdeckt. Nachher wurde es auch in Pappelarten gefunden. Es bildet weisse rhombische Kristalle, welche sich im Wasser leicht lösen. Die Lösung reduziert die FEHLINGsche Lösung nicht. Die empirische Formel von Salizin ist $C_{13}H_{18}O_7$. Beim Erhitzen mit verdünnten Säuren und auch unter der Wirkung einiger Enzyme zersetzt sich das Salizin unter Wasseraufnahme in Glykose und Saligenin:

$$C_6H_{11}O_6 . OC_6H_4 . CH_2OH + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4 \begin{cases} OH \\ CH_2OH. \end{cases}$$

Das Enzym, welches Salizin in Glykose und Saligenin spaltet, die sogen. Salikase oder Salizylase, ist in Kryptogamen und Phanerogamen gefunden. So haben HERISSEY (49) in verschiedenen Flechten (Cladonia pyxidata, Evernia furfuracea usw.), HEUT (48) in Polyporus Clusitanus (Löcherpilz), BOURQUELOT (46) in Aspergillus niger Salikase erhalten. Nach W. SIGMUND (57) befindet sich die Salizylase in den Blättern und Rinden einiger Salix- und Populusarten, nach WILL und KRAUCH (58) in Kürbissen, nach H. E. ARMSTRONG (55) in Prunus laurocerasus, Laurus lusitanica, Aucuba japonica und vielen anderen. Viele Pflanzen der Familie der Linaceen enthalten nach H. E. ARMSTRONG und J. VARGAS (56) gar keine Salikase oder nur sehr wenig.

Für meine Spaltungsversuche mit Salizin nahm ich zum Beweis der eingetretenen Spaltung Eisenchlorid, durch welches Saligenin eine violette und Salizin eine braune Färbung erhalten.

Versuche mit unfiltrierter Rizinuslipasenemulsion.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 1 %ige Salizinlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 1 %ige Salizinlösung + 5 ccm 1 %ige Rizinuslipasenemulsion nach Jalander. Glas 3, 5 ccm 1 %ige Salizinlösung + 5 ccm 1 %ige Rizinuslipasenemulsion nach Falk und Nelson.

Bei 38° nach 24 Stunden gaben Gläser 1—3 keine Spur von Spaltung. Bei 65—70° nach 2 Stunden gaben Glas 1 keine Spuren von Spaltung, Gläser 2 und 3 eine schwache Eisenchloridreaktion auf Saligenin.

Die Versuche 2, 3, 4 und 5 gaben dasselbe Resultat.

Rizinuslipase wirkt also auch auf Salizin hydrolytisch spaltend ein.

c) Spaltung von Helizin.

Das Helizin wurde von Michael künstlich erhalten und hat die empirische Formel $C_{13}H_{16}O_7$. Synthetisch wird es durch die Mischung alkoholischer Lösungen Azetochlorhydrose und Salizylaldehydkalium erhalten. Bei einer vorsichtigen Oxydation des Salizins mit verdünnter Salpetersäure erhält man das Helizin neben Helicoidin. Durch die Reduktion des Helizins verwandelt es sich leicht wieder in Salizin. Das Helizin kristallisiert in weissen Nadeln, welche leicht in heissem Wasser und Alkohol gelöst werden, schwer löslich aber in kaltem Wasser und unlöslich in Äther sind. Das Helizin zerlegt sich beim Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren oder wässrigen Alkalilösungen und auch durch Digestion mit Emulsin in Glykose und Salizylaldehyd nach folgender Gleichung:

$$C_{13}H_{16}O_7 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4OH\,.\,COH.$$

Das bei der Helizinzerlegung entstehende Salizylaldehyd wird leicht durch seinen charakteristischen durchdringenden Geruch und durch die Eisenchloridreaktion erkannt. Durch Eisenchlorid färbt sich das Salizylaldehyd tief violett, das Helizin aber verändert die Farbe nicht.

Pruriewitsch (59) fand, dass lebende Pilze Helizin ebenso wie Emulsin zerspalten können. Aus den Versuchen von Bourquelot (44) und auch Heut (48) ist zu sehen, dass Aspergillus niger und Polyporus Clusianus eine Helizin in Glykose und Salizylaldehyd zerlegende Helikase enthalten. Nach van Rijn (60) enthält auch die Hefe solch ein Enzym.

Nun gehe ich auf meine Versuche über.

Versuche mit unfiltrierter Rizinuslipasenemulsion.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 1 %ige Helizinlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 1 %ige Helizinlösung + 5 ccm 1 %ige Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 1 %ige Helizinlösung + 5 ccm 1 %ige Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 38° gaben Gläser 2 und 3 nach 24 Stunden einen schwachen Geruch nach Salizylaldehyd, aber gaben keine Eisenchloridreaktion. Glas 1 gab keine Spuren von Spaltung. Bei 65—70° gaben Gläser 2 und 3 nach 2 Stunden einen ziemlich starken Geruch nach Salizylaldehyd und eine deutliche Eisenchloridreaktion. Glas 1 gab keine Spuren von Spaltung.

Die Versuche 2, 3, 4, 5 und 6 gaben dasselbe Resultat.

Die Rizinuslipase vermag also auch Helizin hydrolytisch zu spalten.

d) Spaltung von Arbutin.

Im Jahre 1852 entdeckte KAVALIER das Arbutin in Folia Uvae ursi. Es kommt auch in vielen anderen Erikaceen vor und ist fast immer in Begleitung von Methylarbutin. Arbutin kristallisiert in weissen, langen, feinen Nadeln, welche in kaltem Wasser und Äther schwer löslich sind; in heissem Wasser und Alkohol lösen sie sich sehr leicht. Die Arbutinlösungen reduzieren nicht die FEHLINGsche Lösung, nicht die ammoniakalische Silbernitratlösung. Die empirische Formel von Arbutin ist: $C_{12}H_{16}O_7$. Beim Kochen mit Mineralsäuren und auch durch Digestion mit Emulsin spaltet sich Arbutin unter Wasseraufnahme in Glykose und Hydrochinon nach der Gleichung:

$$C_{12}H_{16}O_7 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4(OH)_2.$$

Arbutin färbt sich mit Ferriionen blau, Hydrochinon grün; ferner reduziert Hydrochinon FEHLINGsche Lösung schon in der Kälte, Arbutin natürlich nicht.

HEUT (48) fand, dass der Löcherpilz (Polyporus Clusianus) ein Enzym enthält, welches Arbutin energischer als Emulsin spaltet. BOURQUELOT (46) fand Arbutase in Aspergillus niger, SIGMUND (51) im Heidekraut und in den Heidelbeeren.

Nun gehe ich auf meine Versuche über.

Versuche mit unfiltrierter Rizinuslipasenemulsion.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 1 %ige Arbutinlösung + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm 1 %ige Arbutinlösung + 5 ccm Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER. Glas 3, 5 ccm 1 %ige Arbutinlösung + 5 ccm Rizinuslipasenemulsion nach FALK und NELSON.

Bei 38° nach 24 Stunden gaben Gläser 1—3 keine Spuren von Spaltung. Bei 65—70° nach $1^1/_2$ Stunden gaben Gläser 2 und 3 eine deutliche Reaktion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung.

Dasselbe Resultat gaben die Versuche mit unfiltr. Rizinuslipasenemulsion und die Versuche 1—6 mit dem Filtrat der Rizinuslipasenemulsion nach JALANDER und nach FALK und NELSON.

Der Rizinuslipase wohnt also auch arbutinspaltende Kraft inne.

Folgende Tabelle zeigt deutlich die Resultate meiner Spaltungsversuche mit Glykosiden, von denen die nicht spaltbaren nur hier kurz aufgeführt werden.

Tabelle III.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin
Rizinuslipase nach JALANDER . . .	spaltet	spaltet	spaltet	spaltet	nicht	nicht
„ „ FALK u. NELSON	„	„	„	„	„	„

Also spalten die Rizinuslipasen nach JALANDER und die nach FALK und NELSON Amygdalin, Salizin, Helizin und Arbutin, zeigen aber keine Wirkung auf Aesculin und Sinigrin. Die Spaltung von Amygdalin, Salizin und Arbutin geht nur beim Erhitzen der Mischung auf 65—70°, dann aber in $1^1/_2$—2 Stunden vor sich. Unter der Rizinuslipasenwirkung spaltet sich das Helizin schon bei 38°, der Spaltungsprozess aber geht sehr langsam vor sich. Die Spaltung von Glykosiden war am besten bei einer neutralen oder schwachsauren Reaktion zu sehen. Nach Hinzufügen von 3 Tropfen verdünnter Essigsäure zu 10 ccm Mischung (5 ccm 1%ige Glykosidlösung + 5 ccm 1%ige Rizinuslipasenemulsion) wurde die Glykosidspaltung stark zurückgehalten, und nach Hinzufügen von 3 Tropfen verdünnter Schwefelsäure hörte die Glykosidspaltung ganz auf.

4. Spaltungsversuche mit den Rizinuslipasen an Estern.

Von Estern nahm ich für meine Versuche Tannigen und Salol. Tannigen zerlegt sich unter der Wirkung tierischer Enzyme und gibt unter den Zerfallprodukten Tannin. Von dessen Spaltung mit pflanzlichen Enzymen ist nichts bekannt. Das Salol in Salizylsäure und Phenol spaltende Enzym, die sogenannte Salolase oder Amylsalicylase, ist auch nur im Tierreiche bekannt.

Zu meinen Spaltungsversuchen mit Tannigen und Salol benutzte ich die Eisenchloridreaktion. Beim positiven Resultate

gab die Mischung mit Eisenchlorid eine dunkelviolette Färbung. Ausser dieser Reaktion benutzte ich zu den Versuchen mit Tannigen die Reaktion mit Jodjodkalium. Nach Hinzufügen von 1 Tropfen Jodjodkaliumlösung zur Mischung zeigte die Flüssigkeit im Falle der Spaltung des Tannigens eine rote Färbung, die nach einigen Minuten in gelbliche überging. Wovon diese Reaktion abhängt, ist unbekannt.

Meine Spaltungsversuche mit Tannigen und Salol gaben folgendes Resultat. Bei 38° nach 15 Stunden gab die Mischung von Rizinuslipase nach JALANDER und nach FALK und NELSON mit Tannigen eine deutliche Reaktion mit Eisenchlorid und Jodjodkalium; bei 65—70° wurde eine deutliche Reaktion nach 1—1½ Stunden erhalten.

Was Salol betrifft, so gaben alle meine Versuche ein negatives Resultat.

So scheint also die Rizinuslipase nach JALANDER und nach FALK und NELSON ein tannigenzerlegendes Enzym zu enthalten, aber nicht als Salolase wirken zu können.

5. Zusammenfassung aller Ergebnisse.

Das, was man als reinste Lipase nach JALANDER darzustellen imstande ist, hat keineswegs nur lipatische Fähigkeiten, sondern es spaltet auch Ester, Glykoside und hochmolekulare Kohlehydrate hydrolytisch. Auch das von TAYLOR 1906 gefundene Endotrypsin dürfte in der nach JALANDER darstellbaren Lipase enthalten sein, wenngleich ich es bei einigen wenigen Versuchen nicht zu finden vermochte. Da nun die Lipase unzweifelhaft aber auch Rizinwirkungen auf Blut entfaltet, liegt es doch überaus nahe, auch die Rizinwirkung auf Blut als eine enzymatische aufzufassen. Diese schon mehrfach ausgesprochene Vermutung hat durch meine Versuche an Wahrscheinlichkeit gewonnen. Ob bei allen diesen Fermentvorgängen ein einziges Universalenzym zugrunde liegt, und ob dies mit dem nach OSBORNE gereinigten Rizin identisch ist, wird die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein müssen. Falls das Rizin Fermente in sich bezw. neben sich enthält, musste es, so meinte Geh. Rat KOBERT, von einigem Interesse sein, die Phasine nach der gleichen Richtung hin zu untersuchen. Mit dieser Aufgabe beschäftigen sich daher die nächsten Kapitel.

II. Über Robin und Robiniensamenphasin.

Im Jahre 1889 hatten Power und Cambier aus der Rinde von Robinia Pseudacacia ein Eiweisssubstanz erhalten, welches sie als Nucleoproteid von saurer Reaktion annahmen. Nach Power und Cambier (61) spaltet diese Substanz Amygdalin und Sinigrin und koaguliert Milch ähnlich wie das Labferment. Die Wirkung dieser Substanz auf Blut war von Prof. Kobert noch im Jahre 1892 untersucht und in der ersten Auflage seines Lehrbuches der Intoxikationen kurz erwähnt worden. Im Jahre 1901 erschien die Dissertation von C. Lau (62), in welcher auf Prof. Koberts Vorschlag der von Power und Cambier entdeckten Substanz zum ersten Male die Benennung Robin gegeben war. Nach den Untersuchungen von C. Lau agglutinieren die Robinlösungen das Schweine-, Hammel-, Kaninchen-, Meerschweinchen-, Kalbs-, Frosch- und Krähenblut und haben keine Wirkung auf Menschenblut (plazent.), Hundeblut und Katzenblut. Mendel (63) fand, dass der Robiniensamenauszug Kaninchen-, Schweine- und Hammelblut agglutiniert. In der letzten Zeit ist von Prof. Kobert (1) bewiesen, dass das Rindenrobin und das Samenphasin der Robinie nicht identisch sind. Der Unterschied ist aus ihrem Verhalten zum Hundeblut zu sehen. Rindenrobin agglutiniert nicht das Hundeblut, nicht die isolierten Hundeblutkörperchen, während Samenphasin das Hundeblut schon bei der Konzentration 1 : 14073 agglutiniert. Sterile Spaltungsversuche des Sinigrin mit Rindenrobinlösungen gaben ein negatives Resultat. „Auch sonstige glykosidspaltende Eigenschaften besitzt Robin nicht.“ Die Milch koaguliert es nicht. Butkewetsch (14) fand in der Robinienrinde Amylase, welche Stärkekleister energisch verzuckerte. Zemplén (64) zeigte, dass die Robiniensamen in grossen Mengen Urease enthalten, welche den Harnstoff in CO_2 und NH_3 spaltet. Dabei spalten sich die reinen Harnstofflösungen bedeutend langsamer als der Harn. Näheres über Robin und hierher gehörende Literaturangaben siehe bei Prof. Kobert (1).

Zu meinen Versuchen mit Blut, Kohlehydraten, Glykosiden und Estern extrahierte ich die Rinde und den Samen der Robinia Pseudacacia auf gewöhnliche Weise mit 0.9 %iger NaCl-Lösung (1 : 5). Es muss bemerkt werden, dass die Rinde von den Zweigen junger Bäume im August bis September abgezogen war; zur selben Zeit wurden auch die Samen gesammelt.

Ausser den Versuchen mit Samen- und Rindenauszug untersuchte ich auch die Wirkung des käuflichen Ureasenpräparats aus Robiniensamen (MERCK) auf Blut, Kohlehydrate, Glykoside, Ester, Harn und reine Harnstofflösungen. Zu den Versuchen nahm ich 1 g Ureasenpulver und zerrieb es in einem Mörser mit 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Die Mischung wurde im Wasserbade bei 37° 24 Stunden stehen gelassen und dann von den unlöslichen Teilen abfiltriert.

Jetzt gehe ich zu meinen Blutversuchen über.

1. Blutversuche mit Robinienrindeauszug.

a) Meerschweinchenblut.

Versuch vom 2. Oktober 1912. Robinienrindeauszug (1 ccm = 8 mg Rinde oder 0.034 mg Phasin) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Glas 1, 5 ccm Meerschweinchenblut + 5 ccm physiologische NaCl-Lösung als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm Meerschweinchenblut + 5 ccm Robinienrindeauszug. Glas 3, 5 ccm Meerschweinchenblut + 4 ccm Robinienrindeauszug + 1 ccm physiologische NaCl-Lösung. Glas 4, 5 ccm Meerschweinchenblut + 3 ccm Robinienrindeauszug + 2 ccm physiologische NaCl-Lösung. Glas 5, 5 ccm Meerschweinchenblut + 2 ccm Robinienrindeauszug + 3 ccm physiologische NaCl-Lösung. Glas 6, 5 ccm Meerschweinchenblut + 1 ccm Robinienrindeauszug + 4 ccm physiologische NaCl-Lösung.

Am andern Morgen in No. 2—4 totale, No. 5 partielle und in No. 6 keine Agglutination erfolgt.

Also liegt die Grenze der totalen Agglutination für Meerschweinchenblut bei einer Konzentration des Robins von **1 : 98038** (No. 4).

b) Menschenblut (plazent.).

1. Versuch vom 8. Oktober 1912. Robinienrindeauszug (1 ccm = 8 mg Rinde oder 0.034 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Rindenrobingehalt in der Mischung von 1 : 98038 (Glas 4).

2. Versuch vom 8. Oktober 1912. Robinienrindeauszug (1 ccm = 10 mg Rinde oder 0.042 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Rindenrobingehalt in der Mischung von 1 : 79365 (Glas 4).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des plazent. Menschenblutes bei einem Rindenrobingehalt in der Mischung von **1 : 88701**.

c) Taubenblut.

Versuch vom 9. Oktober 1912. Robinienrindeauszug (1 ccm = 10 mg Rinde oder 0.042 mg Phasin) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Taubenblutes bei einem Rindenrobingehalt in der Mischung von **1 : 119047** (Glas 5).

d) Kaninchenblut.

Versuch vom 16. Oktober 1912. Robinienrindeauszug (1 ccm = 13 mg Rinde oder 0.055 mg Phasin, + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Rindenrobingehalt in der Mischung von **1 : 90909** (Glas 5).

e) Hühnerblut.

Versuch vom 21. Oktober 1912. Robinienrindeauszug (1 ccm = 10 mg Rinde oder 0.042 mg Phasin) + 2 %iges Hühnerblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hühnerblutes bei einem Rindenrobingehalt in der Mischung von **1 : 79365** (Glas 4).

f) Katzenblut.

Versuch vom 15. November 1911. Robinienrindeauszug (1 ccm = 250 mg Rinde oder 1.06 mg Phasin) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Katzenblutes bei einem Rindenrobingehalt in der Mischung von **1 : 1887** (Glas 2).

Bei den Versuchen mit Rinder- und Hammelblut erhielt ich stets ein negatives Resultat; diese beiden Blutarten werden also von Robin nicht agglutiniert.

2. Blutversuche mit Robiniensamenauszug.

a) Meerschweinchenblut.

Versuch vom 2. Oktober 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 8.3 mg Samen oder 0.223 mg Phasin) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Meerschweinchenblutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 44842** (Glas 6).

b) Schweineblut.

Versuch vom 7. Oktober 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 8.3 mg Samen oder 0.223 mg Phasin) + 2 %iges Schweineblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Schweineblutes beim Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 22421** (Glas 5).

c) Menschenblut (plazent.).

Versuch vom 8. Oktober 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 1.66 mg Samen oder 0.0446 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 223991** (Glas 6).

d) Taubenblut.

Versuch vom 9. Oktober 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 0.332 mg Samen oder 0.0089 mg Phasin) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 1121075** (Glas 6).

e) Katzenblut.

Versuch vom 14. Oktober 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 3.32 mg Samen oder 0.0892 mg Phasin) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 112107** (Glas 6).

f) Kaninchenblut.

1. Versuch vom 16. Oktober 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 8.3 mg Samen oder 0.223 mg Phasin) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 22242** (Glas 5).

2. Versuch vom 19. Oktober 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 13.3 mg Samen oder 0.356 mg Phasin) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 28090** (Glas 6).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 25255**.

g) Hammelblut.

Versuch vom 16. November 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 11.06 mg Samen oder 0.295 mg Phasin, + 2 %iges Hammelblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hammelblutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 16949** (Glas 5).

h) Hundeblut.

Versuch vom 19. November 1912. Robiniensamenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.536 mg Phasin) + 2 %iges Hundeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hundeblutes bei einem Samenphasingehalt in der Mischung von **1 : 18656** (Glas 6).

Bei den Versuchen mit Rinderblut ergab sich ein negatives Resultat.

3. Blutversuche mit Urease aus Robiniensamen.

Die Urease war von der Firma Merck auf Veranlassung von Geh. Rat Kobert hergestellt worden.

a) Menschenblut (plazent.).

1. Versuch vom 13. November 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.2248 mg Urease) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 22244** (Glas 5).

2. Versuch vom 16. Dezember 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.2248 mg Urease) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 22244** (Glas 5).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des plazentaren Menschenblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 22244**.

b) Katzenblut.

1. Versuch vom 13. November 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.2248 mg Urease) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 11122** (Glas 3).

2. Versuch vom 3. Dezember 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.2248 mg Urease) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 26709** (Glas 4).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Katzenblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 18915.**

c) Meerschweinchenblut.

Versuch vom 29. November 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.2248 mg Urease) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Meerschweinchenblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 22244** (Glas 5).

d) Rinderblut.

1. Versuch vom 4. Dezember 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.4496 mg Urease) + 2 %iges Rinderblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 7414** (Glas 4).

2. Versuch vom 6. Februar 1913. Ureasenlösung (1 ccm = 0.562 mg Urease) + 2 %iges Rinderblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 3560** (Glas 2).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Rinderblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 5487.**

e) Kaninchenblut.

Versuch vom 9. Dezember 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.2248 mg Urease) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 44484** (Glas 6).

f) Hundeblut.

Versuch vom 19. Dezember 1912. Ureasenlösung (1 ccm = 0.4496 mg Urease) + 2 %iges Hundeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hundeblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 7414** (Glas 4).

g) Schweineblut.

Versuch vom 10. Januar 1913. Ureasenlösung (1 ccm = 2.248 mg Urease) + 2 %iges Schweineblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Schweineblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 4448** (Glas 6).

h) Pferdeblut.

Versuch vom 17. Januar 1913. Ureasenlösung (1 ccm = 0.02248 mg Urease) + 2 %iges Pferdeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen befand sich die Grenze der totalen Agglutination des Pferdeblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 444839** (Glas 6).

i) Hammelblut.

Versuch vom 17. Januar 1913. Ureasenlösung (1 ccm = 0.2248 mg Urease) + 2 %iges Hammelblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hammelblutes bei einem Ureasengehalt in der Mischung von **1 : 26709** (Glas 4).

Bei allen Versuchen mit Kalbsblut wurde ein negatives Resultat erhalten.

Tabelle IV.

Nummer	Blutart:	Robinienrinde		Robiniensamen		Urease aus Robiniensamen
		Totale Agglutination erfolgte noch				
		berechnet auf Rinde bei 1:	berechnet auf Robin bei 1:	berechnet auf Samen bei 1:	berechnet auf Samenphasin bei 1:	berechnet auf organ. Bestandteile bei 1:
1	Taubenblut	500	119047	30120	1121075	nicht untersucht
2	Menschenblut . . .	417	88701	6024	223991	22244
3	Meerschweinchenblut .	417	98038	1024	44842	22244
4	Kaninchenblut . . .	384	90909	751	25255	44484
5	Hühnerblut	333	79365	—	nicht untersucht	nicht untersucht
6	Katzenblut	8	1887	3012	112107	18915
7	Hundeblut	ohne Wirkung		500	18656	7414
8	Hammelblut	—	1807000[1])	904	16949	26709
9	Rinderblut	ohne Wirkung		ohne Wirkung		5487
10	Kalbsblut	—	2106[1])	—	21219[1])	ohne Wirkung
11	Schweineblut . . .	—	1807000[1])	602	22421	4448
12	Pferdeblut	—	nicht untersucht	—	1414427[1])	444839

[1]) Diese Zahlen sind aus Koberts (1) Arbeit entnommen.

Aus der Tabelle IV, welche aus den eben angeführten Protokollen zusammengestellt ist, ist zu sehen, dass KOBERTS Behauptung, wonach die Robinienrinde und auch die Robiniensamen recht wirksame Agglutinine enthalten, richtig ist. Das empfindlichste Blut in bezug auf Rindenrobin war in meinen Versuchen das Taubenblut, am wenigsten empfindlich war Katzenblut. Das Samenphasin der Robinie agglutinierte auch Taubenblut am stärksten, am wenigsten stark Hammelblut. Nach den Untersuchungen von KOBERT ist Krähenblut in bezug auf Rindenrobin das empfindlichste, das unempfindlichste Krötenblut; dasselbe hatte auch LAU schon im Jahre 1901 gezeigt. Nach KOBERT wirkt das Samenphasin der Robinie am stärksten auf Pferde- und Taubenblut und am wenigsten stark auf Froschblut; auf Rinderblut wirkt keins von den beiden Agglutininen, das letztere habe auch ich beobachtet. Rindenrobin agglutiniert weiter kein Hundeblut, was auch LAU und Prof. KOBERT bemerken. Letzterer weist noch darauf hin, dass die fast serumfreien Hundeblutkörperchen durch Rindenrobin nicht agglutiniert werden. Samenphasin im Gegenteil agglutiniert Hundeblut im Verhältnis von 1 : 14073 (KOBERT), in meinen Fällen bei 1 : 18656. Letzteres bestätigt die von Prof. KOBERT ausgesprochene Behauptung, dass das Rindenrobin und das Samenphasin der Robinie nicht identisch sind. Bei den Rindenrobinversuchen mit Katzenblut hat LAU ein negatives Resultat erhalten. KOBERT hat eine ziemlich schwache Agglutination beobachtet (1 : 1052). Nach meinen Untersuchungen wird das Katzenblut beim Rindenrobingehalt im Verhältnis von 1 : 1887 agglutiniert. Die isolierten Katzenblutkörperchen sind sehr empfindlich und werden bei der Konzentration des Rindenrobins im Verhältnis von 1 : 43000 agglutiniert (KOBERT). Das Samenphasin der Robinie agglutiniert nach KOBERT das Katzenblut schon bei einem Gehalt von 1 : 140735, nach meinen Bestimmungen bei 1 : 112107. Plazentares Menschenblut wird nach LAU durch Rindenrobin nicht agglutiniert; Prof. KOBERT aber beobachtete Agglutination dieses Blutes beim Rindenrobingehalt in der Mischung von 1 : 90420; nach meinen Untersuchungen lag die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Rindenrobingehalt in dem Verhältnis 1 : 98038. Die isolierten Menschenblutkörperchen sind sehr empfindlich gegen Rindenrobin und werden schon bei

einer Konzentration in der Mischung von 1 : 1807000 agglutiniert (Kobert.) Nach Kobert agglutiniert das Samenphasin plazent. Menschenblut beim Phasingehalt in der Mischung von 1 : 353600, in meinen Fällen bei einem solchen von 1 : 223991.

Aus der Tabelle ist weiter zu sehen, dass auch das Ureasenpräparat von Merck aus Robiniensamen ziemlich energisch einige Blutarten agglutiniert. Bei meinen Untersuchungen zeigte sich als das empfindlichste in bezug auf Urease Pferdeblut und am wenigsten empfindlich Schweineblut. Ausserdem kann man aus der Tabelle sehen, dass die Urease in bezug auf einige Blutarten sich wie von Rindenrobin so auch von Samenphasin der Robinie scharf unterscheidet, welche, wie schon früher erwähnt, das Rinderblut nicht agglutinieren. Die Urease im Gegenteil agglutiniert Rinderblut bei der Konzentration in der Mischung von 1 : 5487. Auf Kalbsblut bleibt die Urease ohne Wirkung, während das Rindenrobin dieses Blut bei einem Verhältnis von 1 : 2106, Samenphasin bei einem solchen von 1 : 21219 agglutinieren. Der Unterschied ist auch aus dem Verhältnis der Urease zu anderen Blutarten zu sehen (siehe die Tabelle IV). Das alles gibt Grund, anzunehmen, dass die Urease aus Robiniensamen, das Robin der Rinde und das Phasin der Robiniensamen wenn auch untereinander verwandt, so doch nicht identisch sind.

4. Spaltungsversuche mit den drei Stoffen aus der Robinie.

a) Spaltung von Kohlehydraten.

Zu den Versuchen der Umwandlung von Kohlehydraten nahm ich 1 %igen Kartoffelstärkekleister, 0.1 %ige Glykogen- und Inulinlösung, 0.2 %ige Rohrzucker- und Milchzuckerlösung.

Die Resultate meiner Untersuchungen zeigt die Tabelle.

Tabelle V.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Robinienrinde . . .	spaltet	nicht	nicht	invertiert	nicht
Robiniensame. . . .	"	"	"	"	"
Urease	"	"	"	"	"

Von dieser Tabelle muss folgendes bemerkt werden: Der Robinienrindenauszug übte in allen meinen Versuchen (im ganzen waren 8 Versuche angestellt) eine starke saccharifizierende Wirkung auf Kartoffelstärkekleister. Bei 38° gab die Mischung gleicher Mengen von 1 %igem Kartoffelstärkekleister und Robinienrindenauszug nach 10—12 Stunden keine Reaktion mehr mit Jod; dafür wurde jetzt mit FEHLINGscher Lösung eine deutliche Zuckerreaktion erhalten. Bei 65—70° verschwand die Reaktion mit Jod schon nach 2 Stunden und die Mischung reduzierte die FEHLINGsche Lösung stark.

Meine Versuche mit Robinienrindenauszug stimmen vollständig mit den Versuchen von BUTKEWITSCH überein. Durch Fällung des Auszugs mit drei Volumen 96 %igem Alkohol gelang es ihm, ein diastatisches Enzym in ziemlich reinerem Zustande zu bekommen. Wie wirksam dieses Präparat ist, kann man aus folgendem sehen. BUTKEWITSCH nahm 0.1 g von seinem Präparat, löste es in 1 ccm Wasser und fügte zu dieser Lösung 10 ccm 3 %igen Stärkekleister hinzu. Die Mischung gab bei 60° schon nach einer halben Stunde keine Reaktion mit Jod und reduzierte stark die FEHLINGsche Lösung. Ein ebenso energisch wirkendes Präparat eines diastatischen Enzyms erhielt er aus der Rinde von Caragana arborescens.

Bei meinen Versuchen zeigte der Robiniensamenauszug ebenfalls die Fähigkeit, Stärkekleister zu verzuckern, aber er wirkte in dieser Richtung weniger energisch als Robinienrindenauszug. Die Reaktion mit Jod verschwand bei 38° in der Mischung von gleichen Mengen 1 %igen Kartoffelstärkekleisters und des Auszugs nicht vor 18—20 Stunden, bei 65—70° aber schon nach 2 Stunden.

Die Urease aus Robiniensamen verzuckert den Stärkekleister ohne Zweifel, aber noch weniger energisch als die Robiniensamen. Bei 38° im Mittel von 6 Versuchen zeigte die Mischung erst nach 24 Stunden keine Reaktion mit Jod mehr, bei 65—70° dagegen schon nach 3—3½ Stunden keine mehr.

Meine Versuche mit Glykogen, Inulin und Milchzucker gaben alle ein negatives Resultat.

Mit der Rohrzuckerlösung wurde ein positives Resultat in den Versuchen mit Robinienrinde und Robiniensamen erhalten. Die Invertierung des Rohrzuckers geht mit beiden Auszügen gleich energisch vor. Bei 38° reduzierte die Mischung aus den

Auszügen und dem Rohrzucker die Fehlingsche Lösung nach 24 Stunden, bei 65—70° im Mittel von 7 Versuchen nach 2 Stunden.

Die Urease aus Robiniensamen scheint keine Invertase zu enthalten.

Also enthalten die Robinienrinde und die Robiniensamen sowohl ein stärkeverdauendes Enzym als Invertase, die Urease aus Robiniensamen enthält aber nur ein stärkeverdauendes Enzym.

b) Spaltung von Glykosiden.

Zu den Versuchen wurden 1 %ige wässrige Lösungen von Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin, Aesculin und Sinigrin genommen. Die nachstehende Tabelle zeigt die Resultate meiner Versuche mit diesen Glykosiden.

Tabelle VI.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin
Robinienrinde .	spaltet (bei 65—70°)	nicht	spaltet (bei 65—70°)	nicht	nicht	nicht
Robiniensame .	spaltet (bei 38°)	nicht	spaltet (bei 65—70°)	nicht	nicht	nicht
Urease . . .	spaltet (bei 38°)	nicht	spaltet (bei 65—70°)	nicht	nicht	nicht

Der Robinienrindenauszug enthält sicher ein Amygdalin spaltendes Enzym. Aber die Amygdalinspaltung unter der Wirkung dieses Auszugs entsteht nur beim Erhitzen der Mischung auf 65—70° binnen 15—20 Stunden; bei 38° trat binnen 72 Stunden keine Spaltung von Amygdalin ein. Auch der Robiniensamenauszug und die Urease spalten Amygdalin. In den Spaltungsversuchen mit Amygdalin, mit Hilfe des Robiniensamenauszugs und ebenso mit Urease konnte man bei 38° nach 24 Stunden und bei 65—70° schon nach 10 bis 15 Min. immer einen Geruch nach bitteren Mandeln verspüren; die Flüssigkeit gab dann stets auch eine deutliche Reaktion mit Guajakonsäurekupfersulfatlösung.

Das Helizin spaltet sich unter der Wirkung beider Auszüge und ebenso unter der Urease beim Erhitzen der

Mischung auf 65—70° nach $1^1/_2$—2 Stunden; aber die Mischung gab nur eine ziemlich schwache Eisenchloridreaktion.

Die Spaltungsversuche mit Salizin, Arbutin, Aesculin und Sinigrin gaben ein negatives Resultat.

Aus all dem Gesagten ist zu sehen, dass die glykosidspaltende Fähigkeit filtrierter Phasinlösungen der Robinienrinde, der Robiniensamen und auch der Urease aus Robiniensamen im allgemeinen nicht gross ist, was mit den Beobachtungen von KOBERT vollständig übereinstimmt.

c) Spaltung von Estern.

Von den Estern verwandte ich zu den Versuchen Tannigen und Salol.

Unter der Wirkung von Robinienrinde- und Robiniensamenauszug spaltete sich das Tannigen leicht. Bei 38° gab die Mischung nach 24 Stunden eine deutliche Eisenchloridreaktion und eine Reaktion mit Jod. Bei 65—70° wurden beide Reaktionen im Mittel von 5 Versuchen nach 1 Stunde erhalten.

Die Urease aus Robiniensamen spaltet das Tannigen energischer als Robinienrinde und Robiniensamen. Bei 38° wurde eine deutliche Eisenchloridreaktion und ebenso eine Reaktion mit Jod schon nach 3—4 Stunden erhalten, bei 65 bis 70° nach 40 Minuten.

Die Spaltungsversuche mit Salol gaben ein negatives Resultat.

d) Spaltung von Harnstoff.

Die Ureasen oder Urasen zersetzen Harnstoff unter Aufnahme von 2 Molekül Wasser in Kohlendioxyd und Ammoniak. Nach LEUBE (65) kommt eine solche Urease in Micrococcus ureae vor, von dem sie leicht in die umgebende Flüssigkeit übergeht. LEA (66) hat versucht, Urease in reinem Zustande darzustellen. Durch Behandlung von Micrococcus ureae mit Alkohol, Ausziehen des Niederschlages mit Wasser und durch wiederholtes Fällen mit Alkohol wird ein Pulver erhalten, welches eine klare Lösung in Wasser gibt, aber Protein enthält. Wie spätere Behandlung gezeigt hat, wird Urease hartnäckig von lebendem Protoplasma gebunden. MOLL (67) erhielt ebenfalls das Enzym in gleicher Weise und von demselben Material;

es zersetzt sich sehr leicht. Schittenhelm (68) erhielt eine ureatisch wirkende Enzym-Lösung frei von Purin-Körpern aus Karolinen-Bohnen (Glycine frutescens); Kikkoji (69) fand eine Urease in einem japanischen Hutpilze (Cartinellus edodes), Zemplén fand eine Urease in Robiniensamen (Robinia Pseudacacia). Das Mercksche Präparat ist nach Zempléns Angaben hergestellt.

Meine Versuche wurden mit Menschenharn und auch mit reinen Harnstofflösungen angestellt. Die Versuche wurden auf folgende Weise gemacht. Ins Probierglas wurden 5 ccm Harn resp. 5 ccm 1 %ige Harnstofflösung gegossen und 5 ccm 1 %ige Ureasenlösung hinzugefügt. Als Antiseptikum nahm ich Fluornatrium. Zum Nachweisen der eingetretenen Zerlegung benutzte ich Streifen von rotem Lakmuspapier, welche in die Probiergläser oberhalb der Flüssigkeit gesenkt wurden. Die Probiergläser wurden mit Watte verstopft.

Versuche mit Menschenharn.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm Menschenharn + 5 ccm dest. Wasser als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm Menschenharn + 5 ccm 1 %ige Ureasenlösung.

Bei 38° bläute sich das rote Lakmuspapier in Glas 2 nach 15 Stunden; bei 65—70° erfolgte die Bläuung des Papiers schon nach 2 Stunden.

Dasselbe Resultat gaben auch die Versuche 2, 3, 4, 5 und 6.

Versuche mit reinen Harnstofflösungen.

Versuch 1: Glas 1, 5 ccm 1 %ige Harnstofflösung + 5 ccm dest. Wasser. Glas 2, 5 ccm 1 %ige Harnstofflösung + 5 ccm 1 %ige Ureasenlösung.

Bei 38° nach 24 Stunden gab Glas 2 eine sehr schwache Bläuung des roten Lakmuspapier. Bei 65—70° blieb das rote Lakmuspapier binnen 3½ Stunden fast ohne Veränderung.

Daran, dass die Urease der Robiniensamen Harnstoff in Ammoniumkarbonat umwandelt, ist also nicht zu zweifeln.

Aber der Harnstoff wird in reinen Lösungen durch diese Urease bedeutend langsamer zerlegt, als wenn Harn verwandt wird. Dasselbe behauptet, wie schon erwähnt worde, Zemplén. Auf Grund seiner Versuche, und ebenso auch meiner, kann vorausgesetzt werden, dass sich im Harn, wie es scheint, Substanzen befinden, welche die Wirkung der Urease aus Robiniensamen auf den Harnstoff begünstigen.

5. Zusammenfassung.

Ein Rückblick auf das über die drei Robiniensubstanzen Gesagte zeigt, dass die beim Rizin ausgesprochene Vermutung richtig war, d. h. dass in der Tat auch bei ungiftigen Agglutininen, d. h. beim Robin, beim Robiniensamenphasin und bei der Robiniensamenurease, neben den Agglutininen Enzyme verschiedener Art nachweisbar sind und den Gedanken nahelegen, dass auch die Phasinwirkung auf Blutkörperchen enzymatischer Natur ist. Eine harnstoffumwandelnde Wirkung konnte ich bei Rizinuslipase nicht konstatieren. Sie scheint auf einige wenige Samen beschränkt zu sein. Sehr merkwürdig ist, dass die Robinie eine dem Robiniensamenphasin ähnlich wirkende Substanz in der Rinde hat. Schon der Entdecker POWER hat gezeigt, dass diese glykosidspaltend wirkt. Die von ihm damit ausgeführte Sinigrinspaltung wurde mit unfiltrierter Substanz und ohne Antiseptikum ausgeführt; bei meinen Versuchen trat sie niemals ein.

III. Über Sojabohnenphasin.

Nach den Untersuchungen von KOBERT (1), WIENHAUS (70) und ASSMANN (71) enthält die Sojabohne ein Phasin, welches Katzen-, Kaninchen-, Meerschweinchen-, Kalbs-, Hammel-, Schweine-, Hühner-, Ratten-, Rinder- und Igelblut agglutiniert. Nach 1stündigem Erhitzen auf 70° hört das Phasin auf, fast alle Blutarten zu agglutinieren und fängt statt dessen an, hämolytisch zu wirken. Bei 75° wird es für alle Blutarten völlig wirkungslos. T. TAKEUCHI (72) zeigte, dass die Sojabohne eine Urease enthält. Nach KOBERT (1) wandelt die Sojabohne den Harnstoff bei Körpertemperatur rasch in Ammoniumkarbonat um; andere Amidsubstanzen bleiben unbeeinflusst.

Meine Untersuchungen mit Blut, Kohlehydraten, Glykosiden, Estern, Menschenharn und Harnstoff stellte ich mit weissen, schwarzen und grünen Sojabohnen an, welche uns von Amani aus gütigst zugeschickt waren. Zu den Versuchen wurde das Sojabohnenmehl mit 0.9 %iger NaCl-Lösung (1 : 5) bei Körpertemperatur im Laufe von 24 Stunden extrahiert, der Auszug dann mit Natriumkarbonat neutralisiert, filtriert und das Filtrat mit 3 Volumen 96 %igen Alkohols gefällt; der das Phasin

enthaltende Niederschlag wurde rasch mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe abgesogen und sofort in physiologischer Kochsalzlösung (bei 38 °) aufgelöst. Nach 24 Stunden wurde von dem nicht gelösten Teil abfiltriert.

Jetzt gehe ich zu meinen Blutversuchen über.

1. Blutversuche mit dem Phasin aus weissen Sojabohnen.

a) Menschenblut (plazentares).

1. Versuch vom 27. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 200 mg Bohnen oder 3.12 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Glas 1, 5 ccm Menschenblut + 5 ccm physiologischer Na Cl-Lösung als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm Menschenblut + 5 ccm Sojabohnenauszug (d. h. Phasinlösung). Glas 3, 5 ccm Menschenblut + 4 ccm Sojabohnenauszug + 1 ccm physiologischer Na Cl-Lösung. Glas 4, 5 ccm Menschenblut + 3 ccm Sojabohnenauszug + 2 ccm physiologischer Na Cl-Lösung. Glas 5, 5 ccm Menschenblut + 2 ccm Sojabohnenauszug + 3 ccm physiologischer Na Cl-Lösung. Glas 6, 5 ccm Menschenblut + 1 ccm Sojabohnenauszug + 4 ccm physiologischer Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 801** (Glas 3).

2. Versuch vom 16. Dezember 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 200 mg Bohne oder 3.12 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 1602** (Glas 5).

3. Versuch vom 19. Dezember 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 100 mg Bohne oder 1.56 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 2140** (Glas 4).

Im Mittel von meinen 3 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Menschenblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 1514**.

b) Kaninchenblut.

Versuch vom 29. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 20 mg Bohnen oder 0.312 mg Phasin) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 8012** (Glas 3).

c) Pferdeblut.

1. Versuch vom 30. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 200 mg Bohnen oder 3.12 mg Phasin) + 2 %iges Pferdeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 1602** (Glas 5).

2. Versuch vom 16. Januar 1913. Sojabohnenauszug (1 ccm = 100 mg Bohnen oder 1.56 mg Phasin) + 2 %iges Pferdeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 1282** (Glas 2).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Pferdeblutes beim Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 1442**.

d) Katzenblut.

1. Versuch vom 30. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 20 mg Bohnen oder 0.312 mg Phasin) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 10683** (Glas 4).

2. Versuch vom 2. Dezember 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 20 mg Bohnen oder 0.312 mg Phasin) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 32051** (Glas 6).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Katzenblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 21367**.

e) Meerschweinchenblut.

Versuch vom 30. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 1.9 mg Bohnen oder 0.0297 mg Phasin) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Meerschweinchenblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 168350** (Glas 5).

f) Taubenblut.

Versuch vom 6. Januar 1913. Sojabohnenauszug (1 ccm = 10 mg Bohnen oder 0.156 mg Phasin) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Taubenblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 64038** (Glas 6).

g) Hundeblut.

Versuch vom 7. Januar 1913. Sojabohnenauszug (1 ccm = 20 mg Bohnen oder 0.312 mg Phasin) + 2 %iges Hundeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hundeblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 8012** (Glas 3).

h) Kalbsblut.

Versuch vom 10. Januar 1913. Sojabohnenauszug (1 ccm = 200 mg Bohnen oder 3.12 mg Phasin) + 2 %iges Kalbsblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Kalbsblutes beim Sojaphasingehalt in der Mischung von **1 : 3205** (Glas 6).

Bei allen Versuchen mit Rinderblut erhielt ich ein negatives Resultat.

2. Blutversuche mit dem Phasin aus schwarzen Sojabohnen.

a) Meerschweinchenblut.

Versuch vom 28. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 2 mg Bohnen oder 0.0312 mg Phasin) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Meerschweinchenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 106837** (Glas 4).

b) Kaninchenblut.

Versuch vom 9. Dezember 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 2 mg Bohnen oder 0.0312 mg Phasin) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen befand sich die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 320512** (Glas 6).

Bei den Versuchen mit Rinder-, Menschen- und Katzenblut wurden nur negative Resultate erhalten.

3. Blutversuche mit dem Phasin aus grünen Sojabohnen.

a) Menschenblut.

Versuch vom 9. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 200 mg Bohnen oder 6.68 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Menschenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 748** (Glas 5).

b) Meerschweinchenblut.

Versuch vom 28. November 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 22 mg Bohnen oder 0.742 mg Phasin) + 2 %iges Meerschweinchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Meerschweinchenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 3369** (Glas 3).

c) Taubenblut.

Versuch vom 2. Dezember 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 20 mg Bohnen oder 0.668 mg Phasin) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Taubenblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 3742** (Glas 3).

d) Kaninchenblut.

Versuch vom 9. Dezember 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 20 mg Bohnen oder 0.668 mg Phasin) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 14970** (Glas 6).

e) Hundeblut.

Versuch vom 19. Dezember 1912. Sojabohnenauszug (1 ccm = 200 mg Bohnen oder 6.68 mg Phasin) + 2 %iges Hundeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hundeblutes bei einem Sojaphasingehalt der Mischung von **1 : 374** (Glas 3).

Bei allen Versuchen mit Rinder- und Katzenblut erhielt ich ein negatives Resultat.

Die Tabelle VII gibt eine vergleichende Übersicht über die Stärke der agglutinierenden Wirkung des Phasins der drei Sojabohnenvarietäten.

Tabelle VII.

Nummer	Blutart:	Weisse Sojabohne		Schwarze Sojabohne		Grüne Sojabohne	
		berechnet auf Samen bei 1:	berechnet auf Samenphasin bei 1:	berechnet auf Samen bei 1:	berechnet auf Samenphasin bei 1:	berechnet auf Samen bei 1:	berechnet auf Samenphasin bei 1:
1	Meerschweinchenblut	2632	168 350	1666	106 837	112	3 369
2	Taubenblut	1000	64 038	—	—	125	3 742
3	Katzenblut	333	21 367	ohne Wirkung		ohne Wirkung	
4	Kaninchenblut	125	8 012	5000	320 512	500	14 970
5	Hundeblut	125	8 012	—	—	12	374
6	Kalbsblut	50	3 205	—	—	—	—
7	Menschenblut	25	1 514	ohne Wirkung		25	748
8	Pferdeblut	17	1 442	—	—	—	—
9	Rinderblut	ohne Wirkung		ohne Wirkung		ohne Wirkung	

Am stärksten reagierte auf das Phasin aus weissen Sojabohnen bei meinen Beobachtungen das Meerschweinchenblut, am wenigsten das Pferdeblut. Mit Rinderblut wurde von mir ein ganz negatives Resultat erhalten. Nach den Untersuchungen von O. Wienhaus (70) wirkte der Auszug aus gelben Sojabohnen, die meinen weissen wohl sehr nahe stehen, am stärksten auf Katzenblut, danach folgten Kaninchen-, Hunde-, Meerschweinchen-, Schweine- und Hühnerblut. Gereinigtes Sojaphasin wirkte nach Wienhaus am stärksten auf Kaninchenblut. Menschenblut (plazentares) agglutinierte nur partiell bei einem Sojaphasingehalt in der Mischung von 1 : 1100. Karpfenblut mit und ohne Serum blieb unbeeinflusst. Assmann (71) fand bei seinen Untersuchungen, dass das Sojaphasin (gelber Sojabohnen) Kaninchenblut agglutiniert beim Phasingehalt in der Mischung von 1 : 5000 und noch stärker auf Katzenblut wirkt, ein wenig schwächer auf Meerschweinchen-, Schweine- und Menschenblut und ebenso auf Kalbs- und Hammelblut (im Mittel 1 : 1000.) Die geringste Empfindlichkeit besitzt Igelblut (1 : 250.) Folglich sind in den Versuchen

von WIENHAUS und von ASSMANN die empfindlichsten für Sojaphasin das Kaninchen- und Katzenblut, in meinen Fällen das Meerschweinchenblut. Die anderen Blutarten gruppieren sich ungefähr in gleicher Ordnung wie es in meinen Versuchen der Fall war und in den Versuchen von WIENHAUS und von ASSMANN.

Das Phasin der schwarzen Sojabohnen wirkte sehr stark auf Kaninchenblut und dreimal schwächer auf Meerschweinchenblut; Katzen-, Menschen- und Rinderblut blieben ganz unbeeinflusst. Leider hatte ich sehr wenig schwarze Sojabohnen und konnte daher die Versuche mit den anderen Blutarten nicht anstellen.

Grüne Sojabohnen wirken am stärksten auf Kaninchenblut und sehr schwach auf Hundeblut; Katzen- und Rinderblut werden gar nicht agglutiniert.

Meine Blutversuche geben Grund, anzunehmen, dass die Phasine der weissen, schwarzen und grünen Sojabohnen nicht identisch sind. Das ist am besten aus dem Verhalten zu Katzen- und Menschenblut zu ersehen. Die weissen Sojabohnen enthalten ein Phasin, welches Katzenblut im Verhältnis von 1 : 21367, Menschenblut von 1 : 1514 agglutiniert, die schwarzen Sojabohnen wirken auf diese Blutarten nicht, die grünen Sojabohnen aber enthalten ein Phasin, welches Menschenblut agglutiniert und keine Wirkung auf Katzenblut hat. Dasselbe kann aus ihrem Verhältnis zu den anderen Blutarten gesehen werden (s. Tabelle auf S. 45). Mit der Änderung der Farbe geht also bei der Bildung der Sojabohnenvarietäten auch eine Änderung biologischer Eigenschaften Hand in Hand.

4. Spaltungsversuche mit Hilfe der drei Sojavarietäten.

a) Spaltung von Kohlehydraten.

Wie die Tabelle VIII zeigt, wandeln die Auszüge aus schwarzen, weissen und grünen Sojabohnen Stärkekleister um, wirken aber überhaupt nicht auf Glykogen, Inulin, Rohrzucker und Milchzucker ein.

(Siehe Tabelle VIII auf S. 47.)

Bezüglich der Stärkeumwandlung muss folgendes bemerkt werden. Weisse und grüne Sojabohnen verzuckern 0.2 %igen Kartoffelstärkekleister bei 38°. Bei 65—70° gibt die Mischung

gleicher Mengen von 0.2 %igem Kartoffelstärkekleister und von Sojabohnenauszug schon nach 1 Stunde keine Reaktion mit Jod und reduziert stark die FEHLINGsche Lösung. Von den schwarzen Sojabohnen wird der Stärkekleister weniger energisch verzuckert. Bei Körpertemperatur verschwindet die Reaktion mit Jod aus der Mischung gleicher Teile von 0.2 %igem Kartoffelstärkekleister und von dem Auszug nach 45—48 Stunden, bei 60—65° nicht vor 2—2½ Stunden. Am besten ging die Umwandlung der Stärke in neutraler Reaktion vor sich.

Tabelle VIII.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Weisse Sojabohne . .	spaltet	nicht	nicht	nicht	nicht
Schwarze „ . .	„	„	„	„	„
Grüne „ . .	„	„	„	„	„

b) Spaltung von Glykosiden.

Meine Versuche mit Glykosiden haben gezeigt, dass weisse, schwarze und grüne Sojabohnen nur schwache glykosidspaltende Eigenschaften enthalten. Von allen drei Varietäten wird nur Amygdalin zerlegt.

Tabelle IX.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin
Weisse Sojabohne . .	spaltet	nicht	spaltet	nicht	nicht	nicht
Schwarze „ . .	„	„	„	spaltet	„	„
Grüne „ . .	„	„	nicht	nicht	„	„

Weisse und schwarze Sojabohnen spalten Amygdalin bei Körpertemperatur nach 24 Stunden. Bei Erhitzen der Mischung aber auf 65—70° konnte schon nach 20—30 Minuten ein Geruch von bitteren Mandeln gespürt werden, und die Flüssigkeit gab eine deutliche Guajakonkupfersulfatreaktion. Die grüne Sojabohne besitzt auch eine amygdalinzerlegende Fähigkeit; der Prozess der Zerlegung geht aber langsamer vor sich: bei 38° gibt die Mischung eine Guajakonkupfersulfatreaktion erst nach 45—48 Stunden, bei 65—70° nach 1 Stunde.

Die weisse Sojabohne enthält weiter Helikase. Die Zerlegung des Helizins erfolgt weniger energisch als die Amygdalinzerlegung. Bei 38° gab die Mischung von gleichen Teilen des Auszugs und der 1 %igen Helizinlösung nur einen schwachen Geruch von Salizylaldehyd, gab aber keine Eisenchloridreaktion. Beim Erhitzen der Mischung auf 65—70° binnen 1 Stunde zeigte die Flüssigkeit eine relativ schwache Eisenchloridreaktion. Schwarze Sojabohnen spalten das Helizin ziemlich energisch bei Körpertemperatur nach 20—24 Stunden; bei 65—70° gab die Mischung binnen 1 Stunde einen ziemlich starken Geruch nach Salizylaldehyd und eine deutliche Eisenchloridreaktion. Grüne Sojabohnen scheinen keine Helikase zu enthalten.

Bei den Spaltungsversuchen mit Arbutin gaben nur die schwarzen Sojabohnen ein positives Resultat. Die Spaltung des Arbutins erfolgte bei 38° nach 20—24 Stunden, und die Mischung gab eine deutliche Reaktion auf Hydrochinon mit ammoniakalischer Silbernitratlösung.

Die Spaltung der Glykoside (Amygdalin, Helizin und Arbutin) ist unter der Wirkung weisser, schwarzer und grüner Sojabohnen eine ganz gleiche sowohl bei einer neutralen wie einer schwachsauren Reaktion.

Die Spaltungsversuche mit Salizin, Aesculin und Sinigrin gaben ein negatives Resultat.

c) Spaltung von Estern.

Wie es die Tabelle X zeigt, besitzen die weissen, schwarzen und grünen Sojabohnen die Eigenschaft, das Tannigen zu spalten. Das Salol wird nur von den schwarzen Sojabohnen zerlegt.

Tabelle X.

	Tannigen	Salol
Weisse Sojabohne	spaltet	nicht
Schwarze „	„	spaltet
Grüne „	„	nicht

Unter der Wirkung des Sojabohnenauszugs wird das Tannigen ziemlich energisch gespaltet, sowohl bei einer neutralen

wie auch bei einer schwach-sauren Reaktion. Bei Körpertemperatur gibt die Mischung schon nach 15 Stunden, bei 65—70° nach 1 Stunde eine deutliche Eisenchlorid- und Jodjodkaliumreaktion. Weisse und grüne Sojabohnen scheinen keine Salolase zu enthalten. Die schwarze Sojabohne spaltet Salol (energischer bei einer schwach-sauren Reaktion) bei Körpertemperatur nach 18 bis 20 Stunden. Beim Erhitzen der Mischung auf 65—70° gibt die Mischung nach 2 Stunden eine deutliche Eisenchloridreaktion.

d) Spaltung von Harnstoff.

Zu den Spaltungsversuchen mit Harnstoff nahm ich Menschenharn und auch reine 1 %ige Harnstofflösungen. Wegen Mangels an schwarzen und grünen Sojabohnen sind die Bestimmungen nur mit weissen Sojabohnen angestellt. Die Untersuchungsmethode war dieselbe, wie bei den entsprechenden Versuchen mit Urease aus Robiniensamen.

Die Zerlegung reiner Harnstofflösungen geht unter der Wirkung weisser Sojabohnen sehr langsam vor sich. Bei Körpertemperatur braucht die Spaltung 24 Stunden; selbst bei 65—70° bläut sich das rote Lakmuspapier nach 2 Stunden noch fast garnicht. Die Zerlegung des Harnstoffs im Harn erfolgt aber viel leichter und bei 38° bläute sich das rote Lakmuspapier nach 10 Stunden, bei 65—70° schon nach 20 Minuten. Hier werden also dieselben Erscheinungen beobachtet, welche ich bei den entsprechenden Versuchen mit Urease aus Robiniensamen beschrieben habe, d. h. die Sojaurease und die Robinienurease werden in ihrer Wirkung auf den Harnstoff des Harns durch andere Harnbestandteile wesentlich unterstützt oder durch diese erst aktiviert.

5. Zusammenfassung.

Ein Rückblick auf das über die drei Sojabohnenvarietäten Gesagte zeigt, dass die beim Rizin ausgesprochene Vermutung, dass, wo Agglutinine sind, auch Enzyme mancherlei Art nachweisbar sind, wie für die Robiniensamen so auch für die Sojabohnen volle Gültigkeit hat. In der Phasinfällung stecken auch bei der Soja Enzyme, welche gewisse Kohlehydrate, Glykoside, Ester und Harnstoff hydrolytisch zerlegen. Es liegt daher nahe, ein einheitliches Uni-

versalenzym in den Sojabohnen wie in den Robiniensamen anzunehmen, welches sowohl die Agglutination als die hydrolytischen Spaltungen bewirkt.

IV. Einiges über die biologischen Eigenschaften der Samen der blauen Lupine.

Das Verhalten der blauen, gelben und weissen Lupine zu Blut ist ein eigenartiges, auf das hier nicht eingegangen werden soll; es wird darüber später aus unserem Institut gesondert berichtet werden. Hier sei nur kurz berichtet, dass ein nach Phasinart dargestelltes Präparat der blauen Lupine auf Stärke verzuckernd und auf Amygdalin, Helizin und Arbutin zuckerabspaltend einwirkt. Einprozentige Lösung von reinem Harnstoff wird durch dieses Präparat der blauen Lupine leicht in Ammoniumkarbonat umgewandelt; es wirkt also als Urease. Auf Harn wirkt es übrigens weniger gut ein. Genug, in der Phasinfällung der blauen Lupine steckt ausser einem Agglutinin auch ein diastatisches Enzym, ein glykosidspaltendes und ein ureatisches.

V. Einiges über die biologischen Eigenschaften der Samen von Phaseolus Mungo und Phaseolus Max.

Die Samen von Phaseolus Mungo und die von der ihr sehr nahe verwandten, botanisch wohl aber nur als Varietät anzusehenden Phaseolus Max, die uns beide gütigst aus Amani zugingen, sind biologisch fast noch garnicht untersucht. KOBERT (1) und O. WIENHAUS (70) fanden in den Samen von Phaseolus Mungo ein Agglutinin, welches auf Taubenblut wirkte. Ob die Samen von Phaseolus Max ein Agglutinin enthalten, ist unbekannt. Ebenso ist von der Wirkung der Samen beider Pflanzen auf Kohlehydraten, Glykosiden usw. nichts bekannt.

Bei meinen Versuchen mit Blut, Kohlehydraten, Glykosiden und Estern extrahierte ich die Samen von Phaseolus Mungo und auch diejenigen von Phaseolus Max auf gewöhnliche Art mit 0.9 %iger NaCl-Lösung (1 : 5). Der Auszug wurde nach 24 Stunden durch Leinwand gepresst, mit Natriumkarbonat neutralisiert und durch ein gewöhnliches Filter filtriert, das Filtrat mit 3 Volumen 96 %igem Alkohol gefällt, der Niederschlag rasch mit einer Wasserstrahlpumpe abgesogen, mit einer

kleinen Menge Alkohol gewaschen und dann sofort in einem Quantum physiologischer Kochsalzlösung, welches dem Quantum des Filtrats bis zur Fällung mit Alkohol entsprach, aufgelöst. Der unlösliche Teil des Niederschlags wurde nach 24 Stunden abfiltriert.

Nun gehe ich auf die Beschreibung meiner Versuche über.

1. Blutversuche mit dem Phasin von Phaseolus Mungo.

a) Menschenblut (plazentares).

Versuch vom 9. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.46 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Glas 1, 5 ccm Menschenblut + 5 ccm physiologische Na Cl-Lösung als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm Menschenblut + 5 ccm Samenauszug. Glas 3, 5 ccm Menschenblut + 4 ccm Samenauszug + 1 ccm physiologische Na Cl-Lösung. Glas 4, 5 ccm Menschenblut + 3 ccm Samenauszug + 2 ccm physiologische Na Cl-Lösuug. Glas 5, 5 ccm Menschenblut + 2 ccm Samenauszug + 3 ccm physiologische Na Cl-Lösung. Glas 6, 5 ccm Menschenblut + 1 ccm Samenauszug + 4 ccm physiologische Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Menschenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 10802** (Glas 5).

b) Schweineblut.

Versuch vom 10. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 10 mg Samen oder 0.23 mg Phasin) + 2 %iges Schweineblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Schweineblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 43521** (Glas 6).

c) Hundeblut.

Versuch vom 11. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.46 mg Phasin) + 2 %iges Hundeblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hundeblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 21740** (Glas 6).

d) Kaninchenblut.

Versuch vom 15. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 200 mg Samen oder 4.6 mg Phasin) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer Na Cl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 2174** (Glas 6).

e) Taubenblut.

Versuch vom 20. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 2 mg Samen oder 0.046 mg Phasin) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Taubenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 108802** (Glas 5).

f) Katzenblut.

Versuch vom 23. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 200 mg Samen oder 4.6 mg Phasin) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Katzenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 435** (Glas 2).

In den Versuchen mit Kalbs-, Rinder-, Pferde-, Hammel- und Ziegenblut bekam ich stets ein negatives Resultat.

2. Blutversuche mit dem Phasin von Phaseolus Max.

a) Menschenblut (plazentares).

Versuch vom 8. Januar 1912. Samenauszug (1 ccm = 10 mg Samen oder 0.189 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Menschenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 52910** (Glas 6).

b) Schweineblut.

Versuch vom 9. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.377 mg Phasin) + 2 %iges Schweineblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Schweineblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 26455** (Glas 6).

c) Pferdeblut.

Versuch vom 16. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 200 mg Samen oder 3.77 mg Phasin) + 2 %iges Pferdeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Pferdeblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 884** (Glas 4).

d) Katzenblut.

Versuch vom 21. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 200 mg Samen oder 3.77 mg Phasin) + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Katzenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 530** (Glas 2).

e) Taubenblut.

Versuch vom 23. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 10 mg Samen oder 0.189 mg Phasin) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Taubenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 52910** (Glas 6).

Bei allen Versuchen mit Kaninchen-, Hunde-, Kalbs-, Rinder-, Hammel- und Ziegenblut erhielt ich ein negatives Resultat.

Aus der Tabelle XI, welche aus den eben angeführten Versuchen zusammengestellt ist, ist ein Unterschied der Wirkung des Samenphasins von Phaseolus Mungo und von Phaseolus Max auf verschiedene Blutarten deutlich zu ersehen.

Tabelle XI.

Nummer	Blutart:	Totale Agglutination erfolgt durch			
		Phaseolus Mungo		Phaseolus Max	
		berechnet auf		berechnet auf	
		Samen bei 1:	Samenphasin bei 1:	Samen bei 1:	Samenphasin bei 1:
1	Taubenblut	2500	108 802	1000	52 910
2	Schweineblut	1000	43 521	500	26 455
3	Hundeblut	500	21 760	ohne Wirkung	
4	Menschenblut (plazent.) .	250	10 880	1000	52 910
5	Kaninchenblut	50	2 174	ohne Wirkung	
6	Katzenblut	10	435	10	530
7	Pferdeblut	ohne Wirkung		16	884
8	Kalbsblut	"	"	ohne Wirkung	
9	Hammelblut	"	"	"	"
10	Rinderblut	"	"	"	"
11	Ziegenblut	"	"	"	"

Das Samenphasin von Phaseolus Mungo wirkt am stärksten auf Taubenblut, sehr schwach auf Katzenblut und garnicht auf Pferde-, Kalbs-, Hammel-, Rinder- und Ziegenblut. Auch O. Wienhaus (70) fand, dass das Samenphasin von Phaseolus Mungo Taubenblut agglutiniert, aber eine deutliche Wirkung auf Schweine- und Kaninchenblut fand er nicht. In meinen Untersuchungen, die mit frischen Präparaten ausgeführt wurden, wurde Schweineblut bei einem Samenphasingehalt der Mischung von 1 : 43521 und Kaninchenblut bei 1 : 2174 agglutiniert.

Auf Grund meiner Versuche muss angenommen werden, dass das Samenphasin von Phaseolus Mungo und das von Phaseolus Max nicht identisch sind. Das ist besonders deutlich aus dem Verhalten zu Hunde-, Kaninchen- und Pferdeblut zu sehen. Samenphasin von Phaseolus Max wirkt absolut nicht auf Hunde- und Kaninchenblut, agglutiniert aber Pferdeblut; Samenphasin von Phaseolus Mungo dagegen agglutiniert Hunde- und Kaninchenblut und wirkt nicht auf Pferdeblut. Ausserdem sind Tauben- und Menschenblut in bezug auf Phaseolus Max gleich empfindlich, während das Samenphasin von Phaseolus Mungo am stärksten auf Taubenblut und zehnmal schwächer auf Menschenblut wirkt. Auf Kalbs-, Hammel-, Rinder- und Ziegenblut wirkt keins von den beiden Agglutininen.

3. Spaltungsversuche mit den beiden Phaseolusarten.

a) Spaltung von Kohlehydraten.

Der Samenauszug von Phaseolus Mungo hat, wie Tabelle XII zeigt, keine Wirkung auf Stärke, Glykogen, Inulin und Milchzucker, doch besitzt er eine Invertase.

Tabelle XII.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Phaseolus Mungo . .	ohne Wirkung	ohne Wirkung	ohne Wirkung	invertiert	ohne Wirkung
Phaseolus Max . . .	spaltet	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

Die Invertierung des Rohrzuckers geht unter der Einwirkung der Invertase aus den Samen von Phaseolus Mungo ziemlich energisch vor sich. Bei Körpertemperatur gibt die Mischung von gleichen Teilen 0.2 %iger Rohrzuckerlösung und Samenauszug nach 10 Stunden, bei 65—70° nach 40 Minuten eine energische Reaktion mit FEHLINGscher Lösung.

Die Samen von Phaseolus Max enthalten Amylase und Invertase. Die Mischung von gleichen Teilen 0.2 %igem Kartoffelstärkekleister und Samenauszug gibt bei Körpertemperatur nach 15 Stunden, bei 65—70° schon nach 2 Stunden eine Reaktion mit Jod und reduziert stark die FEHLINGsche

Lösung. Die Invertierung des Rohrzuckers geht ebenso energisch wie unter der Wirkung des Samenauszugs von Phaseolus Mungo vor sich.

b) Spaltung von Glykosiden.

Der Samenauszug von Phaseolus Mungo und ebenso der von Phaseolus Max spalten Amygdalin, doch ist ihre Spaltungs-Fähigkeit nicht gross. Bei Körpertemperatur wurde nach 24 Stunden im Destillat der Mischung von gleichen Mengen des Samenauszugs und der 1 %igen Amygdalinlösung eine relativ schwache Guajakonkupfersulfatreaktion erhalten. Samenauszug von Phaseolus Max spaltet auch Helizin und Arbutin, allerdings nur schwach, und wirkt absolut nicht auf Salizin, Aesculin und Sinigrin.

Tabelle XIII.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin
Phaseolus Mungo . .	spaltet	nicht	nicht spaltet	nicht spaltet	nicht	nicht
Phaseolus Max . . .	„	„			„	„

Phaseolus Mungo hat keine Wirkung auf Salizin Helizin, Arbutin, Aesculin und Sinigrin.

c) Spaltung von Estern.

Die Spaltungsversuche mit Salol gaben ein negatives Resultat. Die Tannigenspaltung erfolgt unter der Wirkung des Samenauszugs von Phaseolus Mungo und von Phaseolus Max gleich energisch. Schon bei Körpertemperatur gibt die Mischung aus Samenauszug und Tannigen bald eine deutliche Eisenchloridreaktion und eine Reaktion mit Jod.

d) Spaltung von Harnstoff.

Sämtliche Spaltungsversuche mit Harnstoff gaben ein negatives Resultat.

4. Zusammenfassung.

Aus meinen Versuchen kann ersehen werden, dass auch die Samen von Phaseolus Mungo und von Phaseolus

Max neben einem Agglutinin verschiedene Enzyme enthalten. Aber das Samenphasin von Phaseolus Mungo und das von Phaseolus Max sind nicht identisch, was schon aus ihrem verschiedenen Verhalten zu Katzen-, Kaninchen- und Pferdeblut zu ersehen war. Die Samen von Phaseolus Mungo enthalten weiter Invertase, Amygdalase und ein tannigenspaltendes Ferment. Die Samen von Phaseolus Max enthalten Invertase, Amylase, Helikase und ein tannigenspaltendes Ferment. Auch diese Versuche wieder legen den Gedanken nahe, dass die beiden Phaseolusagglutinine enzymatische Natur haben.

VI. Über die Enzyme der Sphenostylis stenocarpa.

Die Samen von wildwachsenden Exemplaren der Sphenostylis stenocarpa dienen in Ostafrika als Nahrungsmittel für Menschen und Haustiere. Prof. F. HONCAMP (73) fand, dass die Sphenostylissamen nach ihrem Nahrungsstoffgehalt den Hülsenfrüchten sehr nahe stehen. In letzter Zeit ist von KOBERT (1) bewiesen, dass die Sphenostylissamen ein Phasin enthalten, welches Meerschweinchenblut, Pferdeblutkörperchen und Katzenblutkörperchen agglutiniert, auf Menschenblut dagegen nicht einwirkt.

Bei meinen Untersuchungen extrahierte ich die zerkleinerten Samen von Sphenostylis stenocarpa aus Amani mit einer fünffachen Menge physiologischer Kochsalzlösung bei 38° im Laufe von 24 Stunden. Als Antiseptikum wurde Toluol genommen; der Auszug durch Leinwand gepresst, mit Natriumkarbonat neutralisiert und durch ein gewöhnliches Filter filtriert.

Ich untersuchte die Wirkung des auf diese Weise vorbereiteten Auszugs auf Kohlehydrate, Glykoside, Ester und Harnstoff.

1. Spaltung von Kohlehydraten.

Bei den Spaltungsversuchen der Kohlehydrate erhielt ich ein positives Resultat nur bei den Versuchen mit Rohrzucker (siehe die Tabelle XIV). Die Invertierung des Rohrzuckers erfolgt unter dem Einfluss des Sphenostylissamenauszugs schon bei Körpertemperatur. Bei 37° gab die Mischung von gleichen Teilen des Samenauszugs und von 2 %iger Rohrzuckerlösung nach 15 Stunden und bei 65—70° schon nach 1 Stunde eine deutliche Reaktion mit FEHLINGscher Lösung.

Die Versuche mit Stärke, Glykogen, Inulin und Milchzucker gaben alle ein negatives Resultat.

Tabelle XIV.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Sphenostylissamen . .	ohne Wirkung	ohne Wirkung	ohne Wirkung	invertiert	ohne Wirkung

2. Spaltung von Glykosiden, Estern und Harnstoff.

Die Spaltung einiger Glykoside erfolgt unter der Einwirkung der Sphenostylissamen ziemlich energisch. Ein positives Resultat erhielt ich bei den Spaltungsversuchen mit Amygdalin, Salizin, Helizin und Arbutin (siehe Tabelle XV).

Tabelle XV.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Sphenostylissamen	spaltet	spaltet	spaltet	spaltet	nicht	nicht	nicht	spaltet	nicht

Die Mischung gleicher Mengen von 1 %iger Amygdalin-, Helizin- und Arbutinlösungen und vom Sphenostylissamenauszug gibt bei Körpertemperatur nach 18 Stunden eine deutliche Reaktion auf die Zerfallprodukte dieser Glykosiden. In den Spaltungsversuchen mit Amygdalin bei 65—70° gab die Mischung schon nach 25 Minuten einen Geruch nach bitteren Mandeln. Die Helizin- und Arbutinlösungen gaben unter der Wirkung des Sphenostylissamenauszugs bei 65—70° nach $1^1/_2$ Stunden eine energische Eisenchloridreaktion resp. eine Reaktion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung. Die Spaltung des Salizins geht weniger energisch vor sich. Bei Körpertemperatur gibt die Mischung nach 24 Stunden eine relativ schwache Eisenchloridreaktion auf Saligenin. Ein negatives Resultat gaben die Spaltungsversuche mit Aesculin und Sinigrin.

Das Tannigen spaltet sich ziemlich rasch unter dem Einfluss des Sphenostylissamenauszugs. Bei Körpertemperatur zeigte die Mischung von Samenauszug und Tannigen nach

15 Stunden eine energische Eisenchloridreaktion und eine Reaktion mit Jod. Bei 65—70° wurde eine deutliche Reaktion auf die Zerfallprodukte des Tannigens schon nach 1 Stunde erhalten.

Die Spaltungsversuche mit Salol und mit Harnstoff gaben ein negatives Resultat.

So zeigen meine Untersuchungen also, dass die Samen von Sphenostylis stenocarpa, die nach KOBERT ein agglutinierend wirkendes Phasin enthalten, auch die Eigenschaft besitzen, Rohrzucker zu invertieren, Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin und Tannigen zu spalten. Auf Stärke, Glykogen, Inulin, Milchzucker, Salol und Harnstoff haben sie allerdings keine Einwirkung.

VII. Über die Enzyme der Erderbse.

Die Erderbse, Voandzeia subterranea *Thouars*, gleicht in ihrer chemischen Zusammensetzung nach den Untersuchungen von Prof. F. HONCAMP (73) und M. ZAGORODSKY (74) unsern Hülsenfrüchten, hat aber einen grösseren Fettgehalt. O. WIENHAUS (70) fand, dass die Erderbse ein Phasin enthält, welches Meerschweinchen-, Hühner- und Taubenblut agglutinierte. Bei KOBERTS (1) Versuchen agglutiniert das Erderbsenphasin nur Tauben- und Kaninchenblut, wirkte aber z. B. nicht auf Meerschweinchenblut, Katzenblutkörperchen und Pferdeblutkörperchen.

Zu meinen Versuchen mit Blut, Kohlehydraten, Glykosiden, Estern und Harnstoff bereitete ich den Auszug auf gewöhnliche Art aus zerkleinerten Samen der von WIENHAUS und KOBERT übriggelassenen Reste des Voandzeia subterranea mit physiologischer Kochsalzlösung (1 : 5) zu. Der Auszug wurde mit 3 Volumen 16 %igem Alkohol gefällt, der erhaltene Niederschlag sofort in 0.9 %iger NaCl-Lösung aufgelöst. Im übrigen wurde ebenso verfahren wie bei den Versuchen mit der Sojabohne.

Um die agglutinierende Wirkung des Samenauszugs zu untersuchen, nahm ich Menschen-, Kaninchen-, Hunde-, Katzen-, Schweine-, Ziegen-, Kalbs-, Hammel-, Rinder-, Pferde- und Taubenblut und erhielt in allen Fällen ein negatives Resultat. Es scheint also das Agglutinin dieser Samen von Anfang an schwach zu wirken und später seine Wirkung ganz zu verlieren.

1. Spaltung von Kohlehydraten.

Wie aus der Tabelle XVI zu ersehen ist, besitzt die Erderbse nur geringe kohlehydratspaltende Eigenschaften. Die Umwandlungsversuche an Glykogen, Inulin, Rohrzucker und Milchzucker gaben ein negatives Resultat. Ein positives Ergebnis habe ich nur bei den Versuchen mit Umwandlung von Stärke erhalten. Bei Körpertemperatur scheint der Erderbsenauszug den Kartoffelstärkekleister nicht zu verzuckern. Bei 65—70° gibt die Mischung gleicher Mengen von 0.1 %igem Kartoffelstärkekleister und vom Erderbsenauszug nach $1^1/_2$ Stunden eine relativ schwache Reaktion mit Fehlingscher Lösung.

Tabelle XVI.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Erderbse	spaltet (bei 65—70°)	nicht	nicht	nicht	nicht

2. Spaltung von Glykosiden, Estern und Harnstoff.

Die Spaltung des Amygdalins erfolgt unter der Wirkung der Erderbsen schon bei Körpertemperatur, aber ziemlich langsam, während Helizin und Arbutin erst bei 65—70° gespalten werden (siehe Tabelle XVII).

Tabelle XVII.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Erderbse	spaltet (bei 38°)	nicht	spaltet (bei 65 bis 70°)	spaltet (bei 65 bis 70°)	nicht	nicht	nicht	nicht	nicht

Die Mischung von gleichen Teilen 1 %iger Amygdalinlösung und Erderbsenauszug gaben eine deutliche Guajakonkupfersulfatreaktion erst nach 24 Stunden. Die Spaltung des Helizins und Ar, butins findet beim Erhitzen der Mischung auf 65—70° erst nach 1 Stunde statt. Die Spaltungsversuche mit Salizin, Aesculin, Sinigrin, Salol, Tannigen und Harnstoff gaben ein negatives Resultat.

Demnach besitzt die Erderbse die Eigenschaft-Kartoffelstärkekleister zu verzuckern, sowie Amygdalin, Helizin und Arbutin zu spalten.

VIII. Über die Enzyme der Erdnuss.

Die Samen von Arachis hypogaea sind schon einige Mal auf das Vorhandensein von Agglutininen untersucht worden. So enthält die Erdnuss nach MENDEL (63) keine Agglutinine. Prof. KOBERT (1) dagegen fand schon vor 10 Jahren, dass der Samen von Arachis hypogaea ein Agglutinin enthält. In seinem Lehrbuch der Intoxikationen (77) bemerkt er unter anderem: „In dem Erdnusskuchen lässt sich ein für einzelne Blutarten agglutinierend wirkender Stoff nachweisen.“ Seine letzten, z. T. mit FEUERHACK (76) ausgeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass der Erdnussauszug ebenso wie das Phasin daraus Meerschweinchen-, Ratten-, Pferde-, Hunde-, Tauben-, Hühner- und Seehasenblut nicht agglutiniert. Das Rinderblut wird meist nicht agglutiniert, doch in einigen wenigen Fällen wurde es stark agglutiniert. Die Erdnussphasinlösungen agglutinieren dagegen Schweine-, Katzen-, Kalbs-, Hammel-, Kaninchen- und Meerschweinchenblut. Die Versuche an Tieren (Kaninchen, Meerschweinchen, Kalb) zeigten weiter, dass das Erdnussphasin völlig ungiftig ist. Beim Erhitzen der Lösungen auf 70° hört es nach einer Stunde auf, das Blut zu agglutinieren, wodurch es sich scharf von Rizin unterscheidet.

Bei meinen Versuchen extrahierte ich 50 g Erdnusskuchenmehl mit der fünffachen Menge 0.9 %iger NaCl-Lösung 24 Stunden lang unter Zusatz von 1 ccm Toluol bis 38° C. Der Auszug wurde dann durch Leinwand gepresst, neutralisiert und durch ein gewöhnliches Filter filtriert. Das Filtrat wurde zu den Spaltungsversuchen mit Kohlehydraten, Glykosiden, Estern und Harnstoff gebraucht.

1. Spaltung von Kohlehydraten.

Ein positives Resultat wurde bei den Versuchen mit Stärke und denen mit Rohrzucker erhalten (siehe Tabelle XVIII.) Der Erdnussauszug verzuckert den Kartoffelstärkekleister sehr energisch. Bei 38° gab die Mischung aus 5 ccm 0.5 %igem Kartoffelstärkekleister und 5 ccm Erdnussauszug nach 15 Stunden, bei 65—70° schon nach 1 Stunde keine Reaktion mit Jod und reduzierte die FEHLINGsche Lösung stark. Die Invertierung des Rohrzuckers erfolgt unter dem Einflusse von Erdnussauszug mit derselben Energie wie die Stärkeumwandlung. Die Versuche mit Glykogen, Inulin und Milchzucker gaben ein negatives Resultat.

Tabelle XVIII.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Erdnuss	spaltet	nicht	nicht	spaltet	nicht

2. Spaltung von Glykosiden, Estern und Harnstoff.

Amygdalin, Salizin, Helizin und Arbutin spalten sich unter dem Einflusse von Erdnussauszug schon bei Körpertemperatur. Aesculin und Sinigrin gaben sowohl bei 38° nach 72 Stunden, wie auch bei 65—70° nach 2 Stunden keine Spuren von Spaltung (siehe Tabelle XIX).

Tabelle XIX.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Erdnuss .	spaltet	spaltet	spaltet	spaltet	nicht	nicht	nicht	spaltet	nicht

Die Mischung von 5 ccm 1 %iger Amygdalinlösung + 5 ccm Erdnussauszug gab bei 38° im Mittel nach 12 Stunden einen starken Geruch nach bitteren Mandeln und eine energische Guajakonkupfersulfatreaktion. Die Spaltung von Helizin und Arbutin erfolgte mit derselben Energie. Schwerer als die anderen spaltet sich das Salizin. Bei den Versuchen mit Estern erhielt ich ein positives Resultat mit Tannigen, welches leicht mit Hilfe des Erdnussauszugs schon bei Körpertemperatur durchschnittlich nach 10 Stunden gespalten wurde.

Demnach besitzt die Erdnuss neben ihren agglutinierenden Eigenschaften für Blut die Fähigkeit, Kartoffelstärkekleister zu verzuckern, Rohrzucker zu invertieren und Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin und Tannigen zu spalten; auf Glykogen, Inulin, Milchzucker, Aesculin, Sinigrin, Salol und Harnstoff hat sie allerdings keine Wirkung. Somit stimmt auch für diese Samenart der Satz, dass neben dem Agglutinin Enzyme vorhanden sind und legen die Vermutung nahe, die Agglutininwirkung enzymatisch aufzufassen.

Alle bisher besprochenen Samen, abgesehen von Rizinus, gehören zur Familie der Papilionaceen. Es schien mir nun von Interesse, auch den einzigen Vertreter der Solanaceen, der ein Agglutinin enthält, darauf zu prüfen, ob auch hier neben dem Agglutinin Enzyme vorhanden sind. Dieser einzige Vertreter ist die Gattung Datura, von der die Spezies Datura Stramonium für mich im Pfarrgarten zu Düsedau gezogen worden war. Ich war daher in der Lage, ganz frische Samen zu benutzen.

IX. Über die biologischen Eigenschaften der Samen von Datura Stramonium.

Im Jahre 1908 haben v. EISLER und v. PORTHEIM (78) als erste bewiesen, dass die Samen einiger Pflanzen der Familie der Solanaceen ungiftige Agglutinine enthalten. Zu diesen gehören Datura ferox, Datura gigantea, Datura laevis, Datura Leichhardii, Datura Metel, Datura Stramonium, Datura Wrigthii und Datura Ceratocaula. ASSMANN (71) fand im Jahre 1911, dass das Samenphasin aus Datura Stramonium am stärksten auf isolierte Kaninchenblutkörperchen und Meerschweinchenblutkörperchen wirkt, auf das serumhaltige Blut dieser Tiere nur halb so stark. Weiter folgen nach Stärke ihrer Empfindlichkeit das Hunde-, Kalbs-, Pferde-, Igel- und Hammelblut.

Zu meinen Versuchen mit Blut, Kohlehydraten, Glykosiden, Estern und Harnstoff wurden die Samen von Datura Stramonium mit einer fünffachen Menge 0.9 %iger NaCl-Lösung bei 38° 24 Stunden lang mit Zusatz von 1 ccm Toluol extrahiert, der Auszug später neutralisiert, mit 3 Volumen 96 %igem Alkohol gefällt und der Niederschlag sofort in physiologischer NaCl-Lösung aufgelöst.

1. Blutversuche mit dem Phasin der Samen von Datura Stramonium.

a) Menschenblut (plazentares).

Versuch vom 28. November 1912. Samenauszug (1 ccm = 40 mg Samen oder 0.792 mg Phasin) + 2 %iges Menschenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Glas 1, 5 ccm Menschenblut + 5 ccm physiologische NaCl-Lösung als Kontrolle. Glas 2, 5 ccm Menschenblut + 5 ccm Samenauszug. Glas 3, 5 ccm Menschenblut + 4 ccm Samenauszug + 1 ccm physiologische NaCl-Lösung. Glas 4, 5 ccm Menschenblut + 3 ccm Samenauszug + 2 ccm physiologische NaCl-Lösung. Glas 5, 5 ccm Menschenblut + 2 ccm Samenauszug

+ 3 ccm physiologische NaCl-Lösung. Glas 6, 5 ccm Menschenblut + 1 ccm Samenauszug + 4 ccm physiologische NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Menschenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 2525** (Glas 2).

b) Taubenblut.

Versuch vom 2. Dezember 1912. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.396 mg Phasin) + 2 %iges Taubenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Nachmittags fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Taubenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 8417** (Glas 4).

c) Rinderblut.

1. Versuch vom 3. Dezember 1912. Samenauszug (1 ccm = 40 mg Samen oder 0.792 mg Phasin) + 2 %iges Rinderblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen befand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Samenphasingehalt in der Mischung 1 : 2525 (Glas 2).

2. Versuch vom 6. Februar 1913. Samenauszug (1 ccm = 50 mg Samen oder 0.990 mg Phasin) + 2 %iges Rinderblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination dieses Blutes beim Samenphasingehalt in der Mischung 1 : 2020 (Glas 2).

Im Mittel von meinen 2 Bestimmungen liegt die Grenze der totalen Agglutination des Rinderblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 2272**.

d) Katzenblut.

Versuch vom 4. Dezember 1912. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.396 mg Phasin + 2 %iges Katzenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Katzenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 25252** (Glas 6).

e) Kaninchenblut.

Versuch vom 9. Dezember 1912. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.396 mg Phasin) + 2 %iges Kaninchenblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Kaninchenblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 25 252** (Glas 6).

f) Hundeblut.

Versuch vom 19. Dezember 1912. Samenauszug (1 ccm = 40 mg Samen oder 0.792 mg Phasin) + 2 %iges Hundeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hundeblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 4208** (Glas 4).

g) Schweineblut.

Versuch vom 10. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.396 mg Phasin) + 2 %iges Schweineblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Schweineblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 6313** (Glas 3).

h) Pferdeblut.

Versuch vom 16. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 20 mg Samen oder 0.396 mg Phasin) + 2 %iges Pferdeblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Pferdeblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 8417** (Glas 4).

i) Hammelblut.

Versuch vom 17. Januar 1913. Samenauszug (1 ccm = 200 mg Samen oder 3.96 mg Phasin) + 2 %iges Hammelblut in physiologischer NaCl-Lösung.

Am andern Morgen fand sich die Grenze der totalen Agglutination des Hammelblutes bei einem Samenphasingehalt der Mischung von **1 : 1262** (Glas 5).

Bei den Versuchen mit Kalbsblut erhielt ich ein negatives Resultat.

Eine vergleichende Übersicht über die Stärke der agglutinierenden Wirkung des Stechapfelphasins gibt Tabelle XX.

Tabelle XX.

Nummer	Blutart:	Grenze der totalen Agglutination	
		berechnet auf Samen bei 1:	berechnet auf Samenphasin bei 1:
1	Kaninchenblut	500	25 252
2	Katzenblut	500	25 252
3	Pferdeblut	166	8 417
4	Taubenblut	166	8 417
5	Schweineblut	125	6 313
6	Hundeblut	83	4 208
7	Menschenblut	50	2 525
8	Rinderblut	45	2 272
9	Hammelblut	25	1 262
10	Kalbsblut	ohne Wirkung	

Aus der Tabelle ist zu sehen, dass das Samenphasin aus Datura Stramonium am wirksamsten auf Kaninchen- und Katzenblut ist; sehr geringe Wirksamkeit besitzt es für Hammelblut. Bei den Versuchen von Assmann waren am empfindlichsten die isolierten Kaninchenblutkörperchen und Meerschweinchenblutkörperchen. Hunde-, Kalbs- und Pferdeblut wurde agglutiniert bei einem Samenphasingehalt der Mischung von 1:4000, Igel- und Hammelblut 1:2000. Bei meinen Versuchen war das Pferdeblut empfindlicher, und die Grenze der Agglutination dieses Blutes lag bei der Konzentration des Phasins in der Mischung von 1:8417; Kalbsblut zeigte bei mir keine Spuren von Agglutination.

2. Spaltungsversuche.

a) Spaltung von Kohlehydraten.

Zu den Versuchen mit Kohlehydraten nahm ich 0.1 %igen Kartoffelstärkekleister, Glykogen-, Inulin-, Rohrzucker- und Milchzuckerlösung. In der Tat erhielt ich bei den Umwandlungsversuchen mit Stärke und Rohrzucker ein positives Resultat (siehe Tabelle XXI).

Tabelle XXI.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Semina Stramonii . .	spaltet	nicht	nicht	invertiert	nicht

Die Verzuckerung des Kartoffelstärkekleisters und ebenso die Invertierung des Rohrzuckers erfolgen bei neutraler Reaktion in der Mischung schon bei Körpertemperatur. Die Mischung von 5 ccm des Samenauszuges mit 5 ccm 0.1 %igem Kartoffelstärkekleister resp. Rohrzuckerlösung reduzierte bei 38° nach 20 Stunden stark die Fehlingsche Lösung. Bei 65—70° wurde eine deutliche Reaktion mit Fehlingscher Lösung nach 2—2½ Stunden erhalten.

Die Versuche mit Glykogen, Inulin und Milchzucker gaben ein negatives Resultat.

b) Spaltung von Glykosiden, Estern und Harnstoff.

Bei den Versuchen mit Glykosiden erhielt ich ein positives Resultat mit Amygdalin, Salizin, Helizin und Arbutin, ein negatives mit Aesculin und Sinigrin (siehe Tabelle XXII).

Tabelle XXII.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Semina Stramonii	spaltet	spaltet	spaltet	spaltet	nicht	nicht	nicht	spaltet	nicht

Die Spaltung des Amygdalins findet unter dem Einflusse des Auszuges von Semina Stramonii schon bei Körpertemperatur statt. Salizin, Helizin und Arbutin zeigen bei 38° nach 24 Stunden nur Spuren von Spaltung, dagegen gab die Mischung von 5 ccm 1 % dieser Glykosidenlösungen und 5 ccm Samenauszug bei 65—70° nach $1^1/_2$ Stunden eine deutliche Eisenchloridreaktion resp. eine Reaktion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung.

Auf Salol wirken die Semina Stramonii absolut nicht, spalten aber Tannigen ziemlich rasch bei Körpertemperatur.

Bei den Versuchen mit Harnstoff wurde ein negatives Resultat erhalten.

So ist aus meinen Untersuchungen also zu sehen, dass die Semina Stramonii sich analog den phasinhaltigen Papilionaceensamen verhalten, d. h. neben dem Agglutinin verschiedene Enzyme enthalten. In unserm Falle besitzen diese die Fähigkeit, Kartoffelstärkekleister zu verzuckern, Rohrzucker zu invertieren und Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin und Tannigen zu spalten.

Auch beim Stechapfel drängt sich also die Vermutung auf, es könne sich um ein einheitliches, vielseitig wirksames Enzym handeln, welches durch seine Wirkung auf Blutkörperchen diese agglutiniert.

Die nachstehenden Versuche beziehen sich auf Samen, welche kein Phasin enthalten, wohl aber z. T. Hämolysine. Es schien mir des Vergleiches wegen wünschenswert, auch einige solche in gleicher Weise zu prüfen.

X. Über die Enzyme einiger Samen, die statt der Agglutinine Hämolysine enthalten.

1. Über Samen Digitalis purpureae.

Die Digitalis purpurea (roter Fingerhut) und die Digitalis grandiflora *All.* (gelber Fingerhut) sind fast von gleicher Zusammensetzung und gleicher Wirkung. Der Unterschied zwischen ihnen ist der, dass das Kraut des roten Fingerhutes Mangan und mehr Oxydasen als das des gelben enthält. Das Infus der Samen beider Pflanzen enthält mehrere Saponinsubstanzen, die wichtigsten von ihnen sind das Digitonin von Kiliani und das damit nicht identische Digitonin von Schmiedeberg. Das letztere wirkt auf rote Blutkörperchen stark hämolytisch. Nach den Untersuchungen von Kobert (79) löst ein Dekokt der Samen von Digitalis purpurea 1:2500 viele Blutarten total (Menschenblutkörperchen, Kaninchenblut, Pferdeblutkörperchen, Igel-, Hammel-, Rinder- und Schweineblut); einige Blutarten werden sogar selbst bei einer Verdünnung von 1:3333 gelöst (Menschenblutkörperchen, Kaninchenblut, Pferdeblutkörperchen, Igel- und Schweineblut). Ob die Digitalissamen neben den Saponinen Enzyme enthalten, welche Kohlehydrate, Glykoside usw. spalten, ist in der pharmakologischen Literatur unbekannt.

Ich habe die Wirkung des Auszugs von Samen von Digitalis purpurea, welche in Finnland von Herrn Prosektor Dr. Alexander von Ucke in seinem Garten frisch gesammelt unserm Laboratorium gütigst geliefert waren, auf Blut, Kohlehydrate, Glykoside, Ester und Harnstoff untersucht. 40 g feingestossene Digitalissamen wurden mit einer fünffachen Menge physiologischer Kochsalzlösung bei 38° binnen 24 Stunden unter Zusatz von 1 ccm Toluol extrahiert. Der Auszug wurde durch Leinwand gepresst, neutralisiert, filtriert und mit 3 Volumen 96 %igem Alkohol gefällt, der Niederschlag, welcher ein etwa vorhandenes Phasin enthalten musste, in einem gleichen Quantum 0.9 %iger NaCl-Lösung, welches dem Quantum des Filtrats bis zur Fällung mit Alkohol entsprach, aufgelöst. Nach 24 Stunden wurde der unlösliche Teil des Niederschlags abfiltriert.

Der auf diese Weise gereinigte Auszug von Digitalissamen hatte keine agglutinierende Wirkung auf Menschen-, Rinder-, Hammel-, Ziegen-, Kalbs-, Schweine-, Pferde-, Hunde-, Katzen-, Kaninchen- und Taubenblut; er war also phasinfrei. Trotzdem

war zu erwarten, dass er Enzyme enthalten werde. Darüber siehe das nachstehende.

a) Spaltung von Kohlehydraten.

Zu den Versuchen mit Kohlehydraten nahm ich 0.1 %igen Kartoffelstärkekleister, Glykogen-, Inulin-, Rohrzucker- und Milchzuckerlösung.

Tabelle XXIII.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Digitalissamen . . .	spaltet	nicht	nicht	spaltet	nicht

Die Verzuckerung der Stärke erfolgte unter dem Einflusse des Digitalissamenauszugs schon bei Körpertemperatur, natürlich aber langsam. Bei 65—70° reduzierte die Mischung von 5 ccm 0.1 %igen Kartoffelstärkekleister und 5 ccm Digitalissamenauszug schon nach $1^1/_2$ Stunden die FEHLINGsche Lösung.

Die Digitalissamen haben die Fähigkeit, auch den Rohrzucker schon bei Körpertemperatur langsam zu invertieren. Bei 65—70° gibt die Mischung schon nach 1 Stunde eine deutliche Reaktion mit der FEHLINGschen Lösung.

Die Umwandlungsversuche mit Glykogen, Inulin und Milchzucker gaben negative Resultate.

b) Spaltung von Glykosiden, Estern und Harnstoff.

Bei den Versuchen mit Glykosiden bekam ich ein positives Resultat mit Spaltung von Amygdalin, Helizin und Arbutin.

Tabelle XXIV.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Digitalissamen . .	spaltet	nicht	spaltet	spaltet	nicht	spaltet	nicht

Die Zerlegung des Amygdalins findet unter der Wirkung des Digitalissamenauszugs schon bei 38° statt. Bei 65—70° gibt die Mischung von 1 %iger Amygdalinlösung

und Samenauszug nach 15 Minuten einen starken Geruch nach bitteren Mandeln und eine energische Guajakonkupfersulfatreaktion. Schwerer spaltet sich Helizin und Arbutin.

Die Mischung von 5 ccm 1 %iger Helizin- resp. Arbutinlösung und 5 ccm Digitalissamenauszug gibt bei 38° nach 24 Stunden eine sehr schwache Eisenchloridreaktion resp. Reaktion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung. Jedoch wird nach Erwärmen der Mischung auf 65—70° eine deutliche Reaktion auf die Zersetzungsprodukte dieser Glykoside nach $1^1/_2$ Stunden erhalten.

Der Digitalissamenauszug spaltet Tannigen bei 38° binnen 20 Stunden, hat aber gar keine Wirkung auf Salol und ebenso nicht auf Harnstoff.

Der Alkoholniederschlag des Samenauszugs von Digitalis purpurea wirkt also nicht auf Blut, verzuckert aber Stärkekleister, invertiert Rohrzucker und spaltet Amygdalin, Helizin, Arbutin und Tannigen. Die hämolytisch wirkenden Saponine finden sich in diesem Niederschlag natürlich nicht, da sie beide alkohollöslich sind.

2. Über die Samen von Delphinium consolida und Atriplex hortensis.

Die Samen des Feld-Rittersporns, Delphinium consolida *L.*, der auf Äckern oft als Unkraut wächst, und ebenso die der Garten-Melde, Atriplex hortensis, sind erst kürzlich von Rusconi (80) als saponinhaltig erkannt worden. Ich füge sie daher am besten hier hinter Digitalis ein.

Zu den Untersuchungen benutzte ich ein aus den Samen nach Phasinart hergestelltes Präparat. Nach den Bestimmungen von Dr. Halberkann enthält dieses Präparat aus den Samen der ersten Pflanze 12.50 % Wasser, 10.07 % Asche, 43 % unlösliche und 57 % lösliche Teile; das Präparat aus den Samen der zweiten Pflanze 16.493 % Wasser, 24.905 % Asche. Ich nahm je 1 g von beiden Präparaten und zerrieb es mit 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung im Mörser. Die Mischung wurde bei 38° 24 Stunden unter Zusatz von 1 ccm Toluol stehen gelassen. Nachher wurde der unlösliche Teil des Niederschlages abfiltriert, das Filtrat mit Natriumkarbonat neutralisiert und zu den Untersuchungen benutzt. Da meine Spaltungsversuche mit dem Samenauszug von Delphinium consolida und die mit Atriplex hortensis ein ganz gleiches Resultat gaben, so bespreche ich sie gleichzeitig.

a) Spaltung von Kohlehydraten.

Bei den Versuchen mit Kohlehydraten erhielt ich ein positives Resultat bei Umwandlung von Stärke und von Rohrzucker.

Tabelle XXV.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker
Samen von Delphinium consolida	spaltet	nicht	nicht	invertiert
„ „ Atriplex hortensis .	„	„	„	„

Die Mischung von 5 ccm 0.2 %igem Kartoffelstärkekleister und 5 ccm Samenauszug gaben bei 38° nach 24 Stunden keine Reaktion mehr mit Jod, reduzierte aber dafür die FEHLINGsche Lösung.

Die Invertierung des Rohrzuckers verläuft relativ schnell. Bei 38° reduzierte die Mischung gleicher Mengen von 2 %iger Rohrzuckerlösung und Samenauszug die FEHLINGsche Lösung schon nach 15 Stunden stark.

b) Spaltung von Glykosiden, Estern und Harnstoff.

Der Samenauszug von Delphinium consolida und ebenso der von Atriplex hortensis spalten Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin und Tannigen schon bei 38°. Bei 65—70° gibt die Mischung von 5 ccm 1 %iger Amygdalinlösung und Samenauszug eine Guajakonkupfersulfatreaktion schon nach 15 Minuten; die Spaltung von Salizin, Helizin, Arbutin und Tannigen erfolgt bei 65—70° erst nach $1^1/_2$—2 Stunden.

Tabelle XXVI.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Samen von Delphinium consolida . .	spaltet	spaltet	spaltet	spaltet	nicht	spaltet	nicht
Atriplex hortensis . . .	„	„	„	„	„	„	„

So besitzen die Samen von Delphinium consolida und diejenigen von Atriplex hortensis in der Tat die Eigenschaft, Stärke, Rohrzucker, Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin und Tannigen zu spalten; auf Glykogen, Inulin, Salol und Harnstoff haben sie allerdings keine Wirkung.

3. Über Strophanthussamen.

Die Samen der in der Pharmakologie viel genannten drei Pflanzenarten, Strophanthus gratus, Strophanthus hispidus und Strophanthus Combé sind meines Wissens noch nicht auf den Gehalt an Enzymen, welche Kohlehydrate, Ester und Harnstoff spalten, untersucht worden. Seit in unserem Institute in allen drei Arten von Kobert und Hessel (81) ein Saponin, die Strophanthinsäure, nachgewiesen und diese von Sieburg (82) analysiert worden ist, musste diese Frage von grossem Interesse sein.

Bei meinen Spaltungsversuchen extrahierte ich die fein gestossenen Samen dieser Pflanzen mit der fünffachen Menge 0.9 %-iger NaCl-Lösung. Der Auszug wurde mit 3 Volumen 96 %-igem Alkohol gefällt. Im übrigen wurde ebenso wie bei den Versuchen mit Digitalissamen vorgegangen. Das Ergebnis fasse ich kurz dahin zusammen, dass die Spaltungsversuche mit Kohlehydraten, mit Glykosiden, mit Estern und mit Harnstoff bei Anwendung der Alkoholfällung des Samenauszugs von Strophanthus hispidus und Strophanthus Combé stets ein negatives Resultat gaben. Der Samen von Strophanthus gratus scheint ebenfalls kein diastatisches Enzym zu enthalten, spaltet aber einige Glykoside (Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin), ebenso Ester (Tannigen) und Harnstoff. Ob in den beiden erstgenannten Strophanthusarten, die ich von Gehe & Comp. bezog, etwa durch Trocknen bei zu hoher Temperatur die Enzyme inaktiviert worden waren, weiss ich nicht.

Tabelle XXVII.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Samen von Strophanthus gratus . .	spaltet	spaltet	spaltet	spaltet	nicht	spaltet	spaltet

Die Spaltung des Amygdalins durch Strophanthus gratus wurde bei 38° nach 18—20 Stunden merkbar; bei 65—70° gab die Mischung schon nach 20—25 Minuten eine deutliche Guajakonkupfersulfatreaktion; Salizin, Helizin und Arbutin wurden auch bei 38° gespalten; eine deutliche Reaktion auf die Spaltungsprodukte wurde dabei aber erst nach 24—30 Stunden, bei

65—70° dagegen schon nach $2^1/_2$—3 Stunden erhalten. Tannigen wurde bei 38° binnen 20—24 Stunden gespalten; bei 65—70° gab die Mischung von Samenauszug und Tannigen schon nach 1 Stunde eine deutliche Eisenchloridreaktion und eine Reaktion mit Jod. Harnstoff wurde durch den Samenauszug von Strophanthus gratus relativ schwach aber sicher sowohl in reinen Lösungen wie im Harn gespalten. Rotes Lakmuspapier wurde im Probierglase mit der Mischung von gleichen Mengen 1 %iger Harnstofflösung resp. Menschenharn und Samenauszug nach 20—24 Stunden ziemlich schwach blau gefärbt.

Das positive Ergebnis der Spaltungsversuche nur mit den Samen von Strophanthus gratus lässt sich vielleicht dadurch erklären, dass gerade diese Samenart aus der Plantage der chemischen Fabrik Dr. HILLRINGHAUS und Dr. HEILMANN in Güstrow stammte. Es ist klar, dass diese Firma die auf ihrer eigenen Besitzung gewachsenen Samen besonders sorgfältig einerntet und trocknet. Ich bin dieser Firma für Überlassung dieser Samen zu Danke verpflichtet. Die Samen der andern beiden Strophanthusarten kamen vermutlich erst durch den Zwischenhandel der Neger in die Hände europäischer Importeure.

Das Gesamtergebnis des vorstehenden Kapitels lässt sich dahin zusammenfassen, dass auch in saponinhaltigen Samen (Digitalis, Delphinium, Atriplex, Strophanthus) Enzyme verschiedener Art in der nach Phasinart gewonnenen Fällung enthalten sind, während die Saponine selbst in diese Fällung nicht übergehen. Würde also — was sehr leicht vorkommen kann — ein Futterkuchen gleichzeitig Saponine und Rizin enthalten, so würden die Saponine, obwohl sie auf Blut umgekehrt wirken wie Rizin, den Rizinnachweis nicht im mindesten stören, da bei der Alkoholfällung alle Saponine im Alkohol gelöst bleiben, das Rizin aber mit den etwa vorhandenen Phasinen ausfällt.

XI. Über die Enzyme einiger Samen, die weder Agglutinine noch Phasine enthalten.

Aus der sehr grossen Zahl von Samen, die hier in Frage kommen könnten, habe ich natürlich nur einige Stichproben herausnehmen können.

1. Über die Enzyme der Sesamsamen.

Kobert (1) untersuchte wiederholt rizinusfreien, vom Handel gelieferten Sesamkuchen auf seine Wirkungen. Seine Versuche mit Tieren und die mit verschiedenen Blutarten zeigten, dass der Sesamkuchenauszug und die nach Phasinart gewonnene Fällung keine giftigen Stoffe enthält, und dass Tauben-, Kaninchen-, Meerschweinchen-, Menschen-, Hunde-, Katzen- und Pferdeblut davon nicht agglutiniert werden.

Zu meinen Untersuchungen extrahierte ich sowohl Sesamkuchenmehl als ölhaltigen Sesamsamen auf übliche Art mit einer fünffachen Menge physiologischer Kochsalzlösung bei 38° binnen 24 Stunden mit Zusatz von 1 ccm Toluol. Der Auszug wurde dann durch Leinwand gepresst, neutralisiert und filtriert. Das Filtrat mit 3 Volumen 96 %igem Alkohol gefällt, der Niederschlag rasch mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe abgesogen und sofort in einer gleichen Menge 0.9 %iger NaCl-Lösung, welche der Menge des Filtrats bis zur Fällung mit Alkohol entsprach, aufgelöst. Nach 24 Stunden wurde der unlösliche Teil des Niederschlags abfiltriert, das Filtrat zu den Spaltungsversuchen mit Kohlehydraten, Glykosiden, Estern und Harnstoff benutzt.

a) Spaltung von Kohlehydraten.

Zu den Umwandlungsversuchen von Kohlehydraten war 1 %iger Kartoffelstärkekleister und 0.2 %ige Glykogen-, Inulin-, Rohrzucker- und Milchzuckerlösung vorbereitet worden.

Tabelle XXVIII.

	Amylum	Glykogen	Inulin	Rohrzucker	Milchzucker
Sesamkuchen	ohne Wirkung	ohne Wirkung	ohne Wirkung	invertiert	ohne Wirkung
Sesamsamen	spaltet	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

Der Sesamkuchenauszug wandelte die Stärke weder bei 38° binnen 48 Stunden noch bei 65—70° binnen 2 Stunden um. Der Sesamsamenauszug dagegen verzuckert den Stärkekleister sehr energisch. Bei Körpertemperatur gab die Mischung von 5 ccm 1 %igem Kartoffelstärkekleister und 5 ccm Sesamsamenauszug nach 12—15 Stunden, bei 65—70° schon nach $1^1/_2$ Stunden eine Reaktion mit Jod und reduzierte stark die Fehlingsche Lösung.

Die Invertierung des Rohrzuckers erfolgte unter dem Einflusse des Sesamsamenauszugs energischer als mit dem Sesamkuchenauszug. Bei 38° reduzierte die Mischung von 5 ccm Sesamsamenauszug und 5 ccm 0.2 %iger Rohrzuckerlösung die FEHLINGsche Lösung nach 15 Stunden, während die Mischung von Rohrzucker mit Sesamkuchenauszug 20—24 Stunden dazu braucht.

Auf Glykogen, Inulin und Milchzucker bleiben beide Auszüge ohne Wirkung.

b) Spaltung von Glykosiden, Estern und Harnstoff.

Der Sesamkuchenauszug spaltet Amygdalin, Helizin, Arbutin und Tannigen bei Körpertemperatur; hat keine Wirkung auf Salizin, Aesculin, Sinigrin, Salol und Harnstoff. Der Sesamsamenauszug spaltet bei 38° Amygdalin, Salizin, Helizin, Arbutin, Tannigen und Harnstoff, zeigt aber keine Wirkung auf Aesculin, Sinigrin und Salol (siehe Tabelle XXIX).

Tabelle XXIX.

	Amygdalin	Salizin	Helizin	Arbutin	Aesculin	Sinigrin	Salol	Tannigen	Harnstoff
Sesamkuchen .	spaltet	nicht	spaltet	spaltet	nicht	nicht	nicht	spaltet	nicht
Sesamsamen .	„	spaltet	„	„	„	„	„	„	spaltet

Es muss bemerkt werden, dass die Spaltung der Glykoside und ebenso die des Tannigens unter dem Einflusse des Sesamsamenauszugs schneller erfolgte als unter der Wirkung des Sesamkuchenauszugs. Im ersten Falle z. B. erfolgte die Amygdalinspaltung bei 38° nach 15—18 Stunden, im zweiten nach 20 bis 24 Stunden. Die Zerlegung des Harnstoffs ging unter dem Einflusse des Sesamsamenauszugs ziemlich schnell vor sich. Das rote Lakmuspapier im Probierglase mit der Mischung von 5 ccm 1 %iger Harnstofflösung und 5 ccm Sesamsamenauszug wurde im Mittel von 6 Versuchen nach 15 Stunden ganz blau gefärbt.

Demnach hat der Sesamkuchen zwar nicht die Eigenschaft, Kartoffelstärkekleister zu verzuckern, aber er vermag Rohrzucker zu invertieren, sowie Amygdalin, Helizin, Arbutin und Tannigen zu spalten. Das Phasin der Sesamsamen besitzt die Fähigkeit, auf dieselben Substanzen und zwar etwas stärker einzuwirken, enthält aber ausserdem auch noch ein salizinspaltendes Enzym und eine Urease.

2. Über die Enzyme frischer Apfelsinenkerne, Zitronenkerne, Apfelkerne, Erlensamen und Kanariengrassamen.

Ich berichte über alle diese nur ganz kurz.

Apfelsinensamenauszug verzuckert 1 %igen Kartoffelstärkekleister ziemlich energisch, spaltet aber Amygdalin, Helizin und Arbutin nur schwach. Dieselben Eigenschaften besitzen Zitronensamen, Apfelkerne, Kanariensamen und Erlensamen.

3. Über die Enzyme der gewöhnlichsten noch unerwähnten Futterkuchen.

Die Spaltungsversuche mit Presskuchen aus Kokossamen, Leinsamen, Palmkernen, Baumwollsamen, Mowrahsamen, mit Erbsenmehl und mit den Samen von Phaseolus erectus gaben ein negatives Resultat. Durch das mit dem Pressen verbundene starke Erhitzen scheint also bei vielen Futterkuchen die Hauptmenge der Enzyme unwirksam zu werden.

Ein Rückblick auf das ganze Kapitel zeigt, dass auch Samen, in denen weder Agglutinine noch Hämolysine enthalten sind, Enzyme verschiedener Art enthalten. Meist wirken diese auf Stärke, auf Rohrzucker, auf Amygdalin, Helizin, Arbutin und Tannigen. Durch den Prozess des Auspressens können diese Enzyme zum Teil unlöslich oder unwirksam werden.

Ich hoffe durch meine Arbeit die Kenntnis der für die Landwirtschaft so wichtigen pflanzlichen Agglutinine und der mit diesen in allen von mir untersuchten Samen eng verbundenen Enzyme für Kohlehydrate, Glykoside, Ester und für Harnstoff etwas erweitert zu haben. Für die Forscher, welche wie z. B. Neuberg (3) bisher schon das Rizin als Enzym aufgefasst haben, dürfte diese Annahme durch meine Untersuchungen noch an Wahrscheinlichkeit gewonnen haben.

Literatur-Verzeichnis.

1. R. KOBERT, Beiträge zur Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine. Separatabdruck aus dem Erinnerungsband KELLNER (79—80) dieser Landw. Versuchs-Stationen 1913.
2. JALANDER, Zur Kenntnis der Rizinuslipase. Biochem. Zeitschr. Bd. **36**, 1911, S. 435.
3. NEUBERG, Lipolyse, Agglutination und Hämolyse. Biochem. Zeitschr. Bd. **11**, 1908, S. 401.
4. TAYLOR, Journ. of biolog. Chemie **2**, 1906, S. 87.
5. K. G. FALK und J. N. NELSON, Some experiments with the Castor bean lipase. Journ. Amer. Chem. Soc. **34**, 1912.
6. KLEMPIN, Studien über das amylolyt. Ferm. im Hafer. Biochem. Zeitschr. Bd. **10**, 1908, S. 204.
7. W. W. BIALOSUKNIA, Über Pflanzenfermente. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **58**, 1909, S. 487.
8. PAYEN et PERSOZ, Mém. sur la diastase. Ann. Chem. Physiol. **53**, 1833.
9. v. GORUP-BESANEZ, Über das Vorkommen diastat. Fermente in den Wickensamen. Chem. Ber. Jahrg. **7**, S. 1478.
10. KJELDAHL, Résumé du Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg **1**, 1879, S. 129, Zit. nach BROWN und MORRIS. Journ. Chem. Society **57**, S. 505.
11. BROWN und MORRIS, Researches on the germination of some of the Gramineae. Journ. Chem. Soc. **57**, 1890, S. 458.
12. BARANEZKI, Die stärkeumbildenden Ferm. in den Pflanzen. 1878, Leipzig. Zit. nach C. OPPENHEIMER, Die Fermente und ihre Wirkung. 1910, Leipzig.
13. BRASSE, Sur la présence de l'amylase dans les feuilles. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **99**, 1884, S. 878.
14. BUTKEWITSCH, Zur Frage über die Umwandlung der Stärke in den Pflanzen und über den Nachweis d. amylolyt. Enzyme. Biochem. Zeitschr. Bd. **10**, 1908, S. 314.
15. A. SCHEUNERT und W. GRIMMER, Zur Kenntnis der in den Nahrungsmitteln enthaltenen Enzyme und ihrer Mitwirkung bei der Verdauung. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **48**, 1906, S. 27.
16. FR. REINITZER, Über die Enzyme des Akaziengummis und einiger anderer Gummiarten. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **61**, 1909, S. 352.
17. GONNERMANN, Über diastat. Ferm. in der Zuckerrübe. Chem.-Ztg., Jahrg. 1895, S. 1806.
18. SAIKI, Über die enzymat. Wirkung des Rettigs (Raphanus sativus *L.*). Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **48**, 1906, S. 469.
19. WROBLEWSKY, Über d. chem. Besch. d. amylolyt. Ferm.-Chem. Ber. **31**, 1898, S. 1130.
20. FRÄNKEL und HAMBURG, Über Diastase, I. Versuche zur Herstellung von Reindiastase und deren Eigenschaften. HOFM. Beiträge Bd. **8**, 1906. Zit. nach C. OPPENHEIMER, Die Fermente und ihre Wirkung, 1910, Leipzig.

21. L. Maquenne et E. Roux, Influence de la réaction du milieu sur l'activité de l'amylase et la composition des amylacées saccharafiés. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. Tome **142**, 1906, S. 124, 1059, 1387.
22. R. Green, On the germination of the tuber of the Jerusalem Artichoke. Annal. of Botany I.
23. Bourquelot, Bullet Soc. Mycol. 1893, **8**, No. 42—43. Zit. nach H. Euler, General Chemistry of the Enzymes. 1912, London. Chapman und Hall.
24. Dean, Exper. studies on inulinase. Bot. Galz. **35**, 1903. Zit. nach Biochem. Handlexikon. Herausgegeben von Prof. E. Abderhalden, 1911, Berlin.
25. Berthelot, Sur l. maturation des fruits. Compt. rend. de l'Academie d. Sc. **51**, 1860, S. 980.
26. Osborne, Zur Kenntnis d. Invertins. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. **28**, 1899, S. 399.
27. Oshima, Über Hefegummi und Invertin. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **36**, 1902, S. 42.
28. Hartley, Spectroscop. notes on the carbohydrates and albuminoids from grain. Journ. Chem. Society **51**, 1887, S. 58.
29. E. Fischer, Bedeutung der Stereochemie für die Physiologie. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **26**, 1898, S. 60.
30. A. Kalanthar, Über die Spaltung von Polysacchariden durch verschiedene Hefenenzyme. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **26**, 1898, S. 88.
31. Wasserzug, Sur la production de l'invertine chez quelques champignons. Annales de l'Institut Pasteur Vol. **1**, 1887, S. 525.
32. M. A. Fernbach, Sur le dosage de la sucrase. Formation de sucrase chez l'Aspergillus niger. Ann. de l'Institut Pasteur Vol. **4**, 1890, S. 1.
33. J. Sanguinetti, Contribution a l'étude de l'amylomyces Rouxii de la levure chinoise et des moisissures ferments de l'amidon. Annales de l'Institut Pasteur Vol. **11**, 1897, pag. 264.
34. H. Pringsheim und G. Zemplén, Studien über die Polysaccharide spaltenden Fermente in Pilzpresssäfte. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **62**, 1909, S. 367.
35. M. Gayon et E. Dubourg, De la fermentation de la dextrine et de l'amydon par les Mucors. Annales de l'Institut Pasteur Vol. **1**, 1887, pag 532.
36. M. J. Laborde. Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle L'Eurotiopsis Gayoni. Annales de l'Institut Pasteur Vol. **11**, 1897, pag. 1.
37. G. Linossier et E. Roux, Sur la nutrition du Champignon du muguet. Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. Tome **110**, 1890, pag. 355.
38. Buchner und Meisenheimer, Über die Enzyme von Monilia candida und einer Milchzuckerhefe. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. **40**, S. 167.
39. T. Brown and J. Heron, Contributions to the History of Starch and its Transformations. Journ. Chem. Society **35**, 1879, S. 596.
40. O'Sullivan, On the presence of invert. in plants etc. Proc. Chem. Soc. **16**. Zit. nach C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkung. 1910, Leipzig.
41. J. Stoklasa, J. Jelinek und E. Vitek, Der anaerobe Stoffw. d. höh. Pflanzen. Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol. **3**, 1903, S. 460. Zit. nach Biochem. Handlexikon. Herausgegeben von Prof. E. Abderhalden, 1911, Berlin.

42. F. SKUTI und A. DARROZINI, Gazetta chimica ital. **37**, 1905, S. 486. Zit. nach Biochem. Handlexikon. Herausgegeben von Prof. E. ABDERHALDEN, 1911, Berlin.
43. O. REMEAUD, Compt. rend. de la Soc. Biol. **61**, 1906, S. 400. Zit. nach E. BOURQUELOT.
44. E. BOURQUELOT, Über den Nachweis des Rohrzuckers in den Pflanzen mit Hilfe von Invertin. Arch. f. Pharmacie Bd. **245**, 1907, S. 164.
45. V. MARTINAUD, Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **144**, 1907, S. 1376.
46. E. BOURQUELOT, Présence d'un ferment analogue à l'émulsine dans les Champignons, et en particulier dans les Champignons parasites des arbres ou vivant sur le bois. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **117**, 1893, pag. 383.
47. E. BOURQUELOT et H. HERISSEY, Sur les proprietés de l'emulsine des Champignons. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **121**, 1895, pag. 693.
48. C. HEUT, Beiträge zur Kenntnis des Emulsins. Arch. d. Pharmacie Bd. **239**, 1901.
49. H. HERISSEY, 1. Journ. de Pharm. et de Chim. (6 série), t. **7**, pag. 577. Zit. nach R. KOBERT. Über einige Enzyme wirbelloser Tiere. PFLÜGERS Arch. Bd. **99**, 1903, S. 166.
2. Recherches sur l'emulsine 1899. Zit. nach C. HEUT 48.
50. LUTZ, Zit. nach C. HEUT 48.
51. E. BOURQUELOT et HERISSEY, Sur la lactase. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **137**, 1903, pag. 56.
52. L. GUIGNARD, Compt. rend. de l'Academie des Sc. **141**, 1905, pag. 16, 448, 637.
53. VAN ITALLIE, Thalictrum aquilegifolium, eine Blausäure liefernde Pflanze. Arch. d. Pharmacie **243**, 1905.
54. G. BERTRAND et L. RIVKIND, Sur la repartition de la vicianine et de la diastase dans les graines de legumineuses. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **143**, 1906, pag. 97.
55. H. E. ARMSTRONG, E. F. ARMSTRONG und E. HORTEN, Studien über Enzymwirkung. Proceed. of Royal Soc. Serie B, Tome **86**, 1913, S. 262; Chem. Zentralbl. Bd. **2**, 1912, S. 1292; Chem. Zentralbl. Bd. **1**, 1913, S. 2161.
56. H. E. ARMSTRONG und J. VARGAS, Studien über Enzymwirkung. Chem. Zentralbl. 1913, Bd. **1**.
57. W. SIGISMUND, Monatshefte für Chemie **30**, 1909, S. 77.
58. WILL und KRAUCH, Zur Kenntnis d. ungeformt. Ferm. in Pflanzensäften. Landw. Versuchs-Stationen **23**, S. 77.
59. PRURIEWITSCH, Bulletin de la Soc. Biol. **4**, 1897. Zit. nach R. KOBERT, Über einige Enzyme wirbelloser Tiere. PFLÜGERS Arch. Bd. **99**, 1903.
60. VAN RIJN, Die Glykoside, 1900, Berlin.
61. POWER and CAMBIER, On the chemical constituens and poisonous principal of the bark of Robinia Pseud acacia. Wisconsin Academy of Sciences Arts and Letters. Dec. 27, 1899.
62. C. LAU, Über vegetabilische Blutagglutinine. Diss. 1901. Rostock.
63. L. B. MENDEL, Observations on vegetable haemagglutinins. Archivo d' Fisiologia, **7**, 1909.
64. C. ZEMPLÉN, Versuche zur technischen Anwendung der Urease aus Robinien samen. Zeitschr. f. angew. Chemie 1912, H. 31, S. 1560.

65. Leube, Über d. ammon. Harngärung. Virchows Arch. **100**. Zit. nach H. Euler. General chemistry of the Enzymes 1912, London.
66. Lea, Some notes on the isolation of a soluble ureaferment from the Torula urea. Journ. of Physiol. **6**, 1885, S. 136.
67. Moll, Über die Antiurease, Hofm. Beitr. Bd. 2, 1902. Zit. nach C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkung. 1910, Leipzig.
68. Schittenhelm, Zit. nach H. Euler. General chemistry of the enzymes 1912, London.
69. T. Kikkoji, Über das Vorkommen von einem Nukleinsäure spaltenden Fermente in Cortinellus edodes. Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. **51**, 1907, S. 201.
70. O. Wienhaus, Zur Biochemie des Phasins. Bioch. Zeitschr. Bd. **18**, 1909, H. 3—7.
71. F. Assmann, Beiträge zur Kenntnis pflanzlicher Agglutinine. Pflügers Arch. Bd. **137**, 1911.
72. T. Takeuchi, Chem.-Zeit. **35**, Jahrg. 1911, S. 408.
73. Prof. F. Honcamp, Die Sojabohne und ihre Abfallprodukte. Mitteilung d. Landw. Versuchs-Stationen **73**, 1909. Rostock. S. a. Landw. Versuchs-Stationen **77**, 1912.
74. M. Zagorodsky, Über einige tropische Pflanzen, die auch als Futtermittel Verwendung finden können, die Banane und die Erderbse. Diss. 1911, Rostock.
75. C. Grimme, Pharm. Zentralhalle, Jahrg. **52**, 1911. Zit. nach R. Kobert 1.
76. H. Feuerhack, Über Erdnussphasin und Rizin. Diss. 1912, Rostock.
77. R. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen. Zweite Aufl., Bd. **2**, 1906, S. 594.
78. v. Eisler und v. Portheim, Über e. Hämagglut. aus Samen v. Datura. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie 1908, T. I, Abt. 1, S. 151.
79. R. Kobert, Über die pharmakologische Bedeutung und die biolog. Wertbestimmung d. Sarsaparillen und ihnen verwandte Drogen. Berichte d. Deutsch. Pharmaz. Gesellsch., Jahrg. **22**, 1912, H. 4, S. 205. — Über die wirksamen Bestandteile und die Verordnungsweise d. Digitalis. Sep.-Abdr. aus No. 333 des Korrespondenz-Blattes d. Mecklenburgischen Ärztevereinsbundes E. V. 1912; Münch. med. Wochenschr. 1912, No. 34.
80. Arn. Rusconi, Archivio di Farmacol sperim. **13**, 1912, S. 1.
81. Ewald Hessel, Beiträge zur Kenntnis der Bestandteile und Wirkungen der Strophanthusdrogen. Diss. Rostock 1913. Sonderabdruck aus dem Sitzungs-Bericht und Abhandl. der Naturforsch. Gesellsch. zu Rostock. [N. F.] Bd. **5**, 1913, S. 137.
82. Ernst Sieburg, Über Strophanthinsäure. Berichte der D. pharmaz. Ges., Jahrg. **23**, 1913, S. 278.

Beiträge zur Kenntnis der chemischen Natur und des biologischen Verhaltens des Rizins.

Von

GEORGE REID.

Auf S. 5 seiner Arbeit[1]) in diesen Versuchs-Stationen hat Geh. Rat KOBERT bereits auf meine Versuche kurz hingewiesen. Bei ihrer prinzipiellen Wichtigkeit hält er es für richtig, sie hier ziemlich unverkürzt zum Abdruck zu bringen, da meine Versuche den Lesern dieser Versuchs-Stationen sonst doch nie vor Augen kommen würde.

CUSHNY[2]) und von ihm unabhängig FRANZ MÜLLER[3]) haben die noch heute von vielen geglaubte Behauptung aufgestellt, das Rizin sei keine einheitliche Substanz, sondern ein Gemisch eines Agglutinins und eines Toxins. Das auf den lebenden Organismus wirksame Toxin sei scharf von dem nur im Reagensglas bei Zusatz von Blut wirksamen Agglutinin zu trennen. LAU[4]) hat als erster im KOBERTschen Institute diesen Anschauungen den Boden zu entziehen gesucht, indem er nachwies, dass das Rizin sich nicht nur mit roten Blutkörperchen, sondern auch mit vielen andern lipoidreichen Zellen des Körpers der Menschen und Tiere zu verbinden imstande ist.

---

[1]) Sep.-Abdr. aus KELLNER-Festschrift 1913.

[2]) ARTH. CUSHNY, Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 41, 1898, S. 439.

[3]) FRANZ MÜLLER, ebenda Bd. 42, 1899, S. 302.

[4]) FR. LAU, Über vegetabilische Blutagglutinine. Dissert. Rostock 1906.

Ich hoffe im nachstehenden durch weitere Versuche Laus Ansicht bestätigen und nachweisen zu können, dass diese Wirkung auf die Körperzellen durch dieselbe Substanz, die auf die Blutkörperchen agglutinierend wirkt, bedingt ist, dass mithin das Toxin und Agglutinin identisch sind.

I. Versuche über die Einwirkung von Rizin auf isolierte Gehirnzellen.

Von den zu meinen Versuchen verwendeten Körperzellen erwiesen sich die Gehirnzellen als am schnellsten von der Wirkung des Rizins betroffen. Verwendet wurde das Rizin durchweg in Form eines Auszugs aus schalenfreien entölten Rizinussamen, der in folgender Weise dargestellt wurde. 10 g enthülste Rizinusbohnen wurden im Mörser mit 95 % Alkohol unter Zusatz von etwas Äther verrieben und dann der Alkohol-Äther abfiltriert und zwar möglichst rasch. Der Filterrückstand wurde vermittels einer Saugpumpe mit etwas Äther gewaschen und getrocknet, dann in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und nach einstündigem Stehen bei 37° im Wasserbad filtriert.

Auf unentölte Samen berechnet war der so entstandene Auszug 10 %ig, auf entfettete aber noch nicht einmal 5 %ig. Bedenkt man ferner, dass ja die Hauptmenge des Samenpulvers ungelöst bleibt, so ergibt sich statt 5 % weniger als 2 % gelöste Stoffe in dem Auszuge. Von diesen gelösten Stoffen ist ferner nach Osborne[1]) nur ein ganz kleiner Teil Rizin. Man kann für die von mir benutzten Samen die Osbornesche Angabe, dass 1 % des von Schalen und Fett befreiten Samenpulvers reines Rizin ist, gelten lassen. Meine Lösung enthielt danach in 100 ccm weniger als 5 g fettfreie Samensubstanz und demgemäss weniger als 0.05 g Rizin. 1 ccm meiner Lösung enthielt also noch nicht 0.5 Milligramm Rizin. Ich will im nachstehenden aber 0.5 mg dafür rechnen.

Versuch 1. Ganz frische blutfreie Gehirnzellen vom Hunde werden in fein verriebenem Zustand in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, die gröberen Partikel durch ein feines Maschennetz abfiltriert. Durch wiederholtes Waschen mit NaCl-Lösung und Absetzenlassen der Zellen

[1]) Thomas B. Osborne: The vegetable Proteins. Newyork 1909. — Derselbe in Abderhalden, Handlexikon, Abschnitt über die pflanzlichen Eiweissstoffe. An beiden Stellen weitere Literatur.

gelingt es, die Hirnzellen bis auf minimale Spuren von Blutkörperchen zu befreien, so dass der etwaige Einwand, die später zu besprechende Agglutination sei eine sekundäre Folge, betreffe eigentlich nur die Blutkörperchen, und die Organzellen würden nur mitgerissen, durchaus hinfällig wird. Es werden 3 Gläser aufgestellt mit je 4 ccm Flüssigkeit und zwar 1, 2 und 3 ccm Flüssigkeit des oben beschriebenen Rizinusauszuges, entsprechend 0.5 mg, 1 mg und 1.5 mg Rizin + 3 bezw. 2 und 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Zu diesen 3 Gläsern wird dann je 1 ccm der hergestellten Hundehirnzellenaufschwemmung hinzugefügt. Ebenso werden 3 Kontrollgläser mit je 4 ccm NaCl-Lösung + 1 ccm Hundehirnzellenaufschwemmung aufgestellt. Nach einer Viertelstunde tritt in den Rizingläsern bereits deutliche Schichtung in eine klare obere und dicke untere Schicht ein und bei der Filtration des mit 3 ccm Rizinusauszug versetzten Glases gehen wasserklare Tropfen durch das Filter, wogegen die Kontrolle trübe durchfiltriert. Nach dem Umschütteln sämtlicher übrigen Gläser ist bereits nach 25 Minuten in den Rizingläsern wieder ein dicker Bodensatz zu sehen, wogegen die Kontrollgläser unverändert erscheinen.

Versuch 2. Wie in Versuch 1 hergestellte, doppelt gewaschene, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Hirnzellen vom Hund werden in der Menge von je 4 ccm zu 2 Versuchsgläsern mit 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung und 1 ccm Rizinusauszug, entsprechend 0.5 mg Rizin, hinzugesetzt. Schon in der ersten Minute tritt in dem mit Rizinlösung versetzten Glase eine auffallende Erscheinung ein, indem die Gehirnzellen sich zusammenballen wie die Blutkörperchen bei der Agglutination und in Klumpen zu Boden fallen. Betrachtet man einen Tropfen aus beiden Gläsern unter dem Miskroskop, so sieht man das eine Mal zusammengeballte Zellen miteinander verklebt und stets haufenweise beieinander liegen, wogegen in dem Tropfen, der der Flüssigkeit ohne Rizinlösung entnommen ist, die Zellen bezw. Zellfragmente gleichmässiger verteilt und einzeln liegend sichtbar sind.

Versuch 3. Von den wie zu Versuch 1 und 2 hergestellten Hundehirnzellen in NaCl-Lösung werden nun grössere Mengen, je 25 ccm, benutzt und diese mit 5 ccm des Rizinusauszugs, entsprechend 2.5 mg Rizin, bezw. mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Man sieht hier wie in den vorhergehenden Versuchen bereits nach 10 Minuten in dem Rizinglas deutliche Schichtung und Zusammenballung der Zellen eintreten, im Kontrollglas aber nichts davon.

Ehe ich diese drei Versuche fortsetze, sind die für alle 3 Versuche nötigen Prozeduren zu erklären. Der Sinn dieser nachstehend besprochenen Prozeduren ist folgender. K. Landsteiner[1]) hat entdeckt, dass man an Blutkörperchen verankertes Rizin durch Salzsäure wieder in Freiheit setzen kann. Nach L. v. Liebermann[2]) soll dies dadurch zu erklären sein, dass sich das Rizin zum Protoplasma der Zellen wie eine schwache Säure verhalte. Es verbinde sich mit ihnen wie schwache Säuren mit

[1]) K. Landsteiner, Münch. med. Wchschr. 1904, No. 27.
[2]) L. v. Liebermann, Arch. f. Hygiene, Bd. 62, 1907, Heft 4.

Basen. Werde nun der Zellenbrei mit einer starken Säure versetzt, so wird das Rizin als schwache Säure frei. Die Tatsache, dass es frei wird, ist allerdings richtig; die von L. v. Liebermann aber gegebene Erklärung, dass Rizin eine Säure sei, wurde von Pauli[1]) widerlegt, da es sich im elektrischen Gefälle nicht wie eine Säure, sondern wie eine amphotere Substanz, d. h. gerade so wie die neutralen Eiweisse insgesamt verhält. Genug, man kann aus dem Agglutinat von Blutkörperchen oder anderen Zellen das verankerte Rizin durch Salzsäure freimachen und kann entweder in saurer Lösung oder sofort nach dem Neutralisieren abfiltrieren. Bei längerem Stehen in nicht mehr saurer Flüssigkeit verbindet es sich von neuem mit den Zellensubstanzen.

Die Flüssigkeit aus dem mit Rizinlösung versetzten Glase wird filtriert. Das Filter mit dem gewaschenen Filterrückstand der agglutinierten Hundehirnzellen wird mit 5 ccm NaCl-Lösung + 1 Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt, nach einer halben Stunde neutralisiert und rasch filtriert. Die Hundehirnzellen bleiben nun auf dem Filter zurück, das Rizin geht in das wasserklare Filtrat. Setzt man zu diesen 5 ccm des rizinhaltigen Filtrates 2 ccm einer 2 %igen Katzenblutkörperchensuspension, so agglutiniert diese sofort total.[2]) Beim Filtrieren bleiben die agglutinierten Blutkörperchen in Form feinverteilter siegellackartiger Klümpchen auf dem Filter zurück.

Behandelt man ebenso das Kontrollglas mit 25 ccm Hundehirnzellenaufschwemmung + 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung, wie vorher beschrieben, so agglutinieren die zugesetzten Katzenblutkörperchen nicht und beim Abfiltrieren gehen Blutkörperchen durch das Filter hindurch, ohne die charakteristischen fein verteilten siegellackartigen Klümpchen zu hinterlassen.

Ergebnis: Durch diese 3 Versuche ist erwiesen, dass die mehrmals gewaschenen Hirnzellen vom Hunde bei Zusatz von physiologischer NaCl-Lösung und Rizinauszug sich zu Klumpen agglutinieren, wie mit blossem Auge und mit dem Mikroskop nachzuweisen ist. Auch nach eintägigem Stehen lässt sich aus diesen Klumpen auf dem Filter durch Waschen mit NaCl-Lösung das Rizin nicht entfernen. Wohl aber kann man diesen Zellen durch verdünnte Salzsäure das Rizin entziehen, und dann durch den Blutversuch zeigen, dass es

---

[1]) Pauli, 25. Kongr. f. innere Med.; Wiener med. Wochenschrift 1908, No. 18.

[2]) Alle Agglutinationsversuche mit Blut und anderen Zellen wurden von mir bei Stubentemperatur vorgenommen, also nicht im Brüteschrank. V. Kafka hat gezeigt, dass auch für Bakterienagglutination Stubentemperatur ausreichend ist. Vergl. Zentralbl. f. Bakteriol., Erste Abt., Originale Bd. 40, 1906, S. 559.

sich an Blutkörperchen verankert und prompt und stark agglutinierend wirkt. Damit ist bewiesen, dass in den Zellen des Hundehirns nicht nur Toxin, sondern auch Agglutinin verankert war, was für die Annahme spricht, dass beide wohl dieselbe Substanz sind. Da diese Substanz erst an Hundehirnzellen gebunden war und sich dann mit Blutkörperchen der Katze verband, kann sie nicht artspezifisch sein.

Versuch 4. Eine Portion Hundehirnzellen, die wie in den vorigen Versuchen hergestellt und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt ist, wird mit Formalin gehärtet zur Konservierung und nach 3 Tagen je 25 ccm mit 5 ccm des obenerwähnten Rizinusauszuges und mit 5 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung versetzt. Beide Portionen werden nach einstündigem Stehen filtriert, nach welcher Zeit sich in dem mit 5 ccm Rizinlösung versetzten Glase eine deutliche Schichtung der Flüssigkeit bemerkbar gemacht hat.

Durch das Filter geht eine leicht trübe Flüssigkeit, von der sich zeigen lässt, dass sie auf Blutkörperchen nicht agglutinierend wirkt, was beweist, dass die zugesetzten 5 ccm Rizinlösung total von den Zellen gebunden sein müssen. Die Filterrückstände werden wie in Versuch 3 mit NaCl-Lösung und einem Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt, nach halbstündigem Stehen neutralisiert, filtriert und die Filtrate mit 2 %igem Igelblut versetzt. Nach 12 Stunden zeigt sich in den mit Igelblut versetztem Filtrate, welches von den mit Rizinlösung versetzten Hundehirnzellen stammt, Agglutination der Blutkörperchen, wogegen das Filtrat der nur mit NaCl-Lösung versetzten Hundehirnzellen keine Agglutination zeigt, ebenso wie eine Kontrollprobe von physiologischer Kochsalzlösung + einer entsprechenden Menge der verwandten Rizinlösung.

Versuch 5. 50 ccm Igelhirnzellen, die in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, ebenso zubereitet sind wie die Hundehirnzellen in Versuch 1, werden in 2 Portionen geteilt und dann aufgestellt.

a) 25 ccm Igelgehirn + 2 ccm 10 %iger Rizinauszug,
b) 25 „ „ + 2 „ NaCl-Lösung.

Die erste Portion zeigt nach wenigen Minuten deutliche Zusammenballung der zu Boden sinkenden Zellen und eine darüberstehende klare Schicht der Flüssigkeit. Nach 12 Stunden werden beide Portionen filtriert, von dem Filtrat zur Agglutinationsprobe Gläser aufgestellt und ein Kontrollglas.

1. 4 ccm Filtrat von a (d. h. Hirn + Rizinlösung) + 1 ccm 3 %iges Hühnerblut.
2. 4 ccm Filtrat von b (d. h. Hirn + NaCl-Lösung) + 1 ccm 2 %iges Hühnerblut.
3. 4 ccm physiologische NaCl-Lösung + 1 ccm 2 %iges Hühnerblut.

Der Filterrückstand beider Portionen wird in der oben beschriebenen Weise behandelt und schliesslich auch mit 2 %iger Hühnerblutsuspension versetzt, wobei das aus Portion a stammende Endfiltrat Agglutination bewirkt, das aus Portion b stammende Endfiltrat dagegen die Blutkörperchen unverändert liess. Die Agglutination trat auch innerhalb 12 Stunden ein, wie

bei Versuch 4, wogegen in den 2 aufgestellten Gläsern des ersten Filtrats sowie in der Kontrolle 3 ebenfalls die Agglutination, wie erwartet, ausblieb.

Versuch 6. 25 ccm in NaCl wie oben beschrieben hergestellte aufgeschwemmte Katzenhirnzellen werden mit 5 ccm Rizinusauszug versetzt als Portion a aufgestellt und 25 ccm Katzenhirnzellen + 5 ccm NaCl als Portion b. Im ersten Glase treten wiederum die bekannten Erscheinungen der Zusammenballung und Schichtung auf. Beide Portionen werden filtriert, die Filtrate wie in Versuch 5 nur diesmal mit 2 %igem Katzenblut zur Agglutinationsprobe angestellt, die nach 12stündiger Beobachtung negativ ausfällt. Die Filterrückstände von a und b, in der üblichen Weise behandelt, ergeben mit 2 %iger Suspension von Katzenblut versetzt folgendes. Bei Portion a zeigt das Endfiltrat deutliche Agglutination, bei Portion b zeigt es keine Agglutination. Beide Portionen gelangten nach 12stündiger Beobachtungszeit zur Untersuchung. Es lassen sich auch hier, wie in Versuch 3 beschrieben wurde, die agglutinierten Blutkörperchen durch Filtrieren als feine siegellackartige Klümpchen auf dem Filter zurückhalten.

Den bisher beschriebenen Versuchen analog wurden untersucht Kaninchenhirn, Schweinehirn, Meerschweinchenhirn. Da die Versuche ganz in derselben Art durchgeführt wurden wie die vorhergehenden, seien sie nur kurz angeführt.

Versuch 8. a) 25 ccm Kaninchenhirnaufschwemmung + 5 ccm Rizinlösung, enthaltend 2.5 mg Rizin; b) 25 ccm Kaninchenhirnaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination des aus dem Zellagglutinat wieder freigemachten Rizins mit 2 % Kaninchenblut 3 Stunden nach Ansetzen mit dem Blut.

Versuch 9. a) 25 ccm Kaninchenhirnaufschwemmung + 5 ccm derselben Rizinlösung; b) 25 ccm Kaninchenhirnaufschwemmung + 5 ccm NaCl. Agglutination des aus dem Zellagglutinat wieder freigemachten Rizins mit 2 %igem Meerschweinchenblut sofort nach Zusatz des Blutes.

Versuch 10. a) 25 ccm Schweinehirnzellenaufschwemmung + 5 ccm derselben Rizinlösung; b) 25 ccm Schweinehirnzellenaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination des aus dem Zellagglutinat wieder freigemachten Rizins mit 1 %igem Kalbsblut nach 12 Stunden.

Versuch 11. a) 25 ccm Schweinehirnzellenaufschwemmung + 5 ccm Rizinlösung; b) 25 ccm Schweinehirnzellenaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination des aus dem Zellagglutinat wieder freigemachten Rizins mit 2 %igem Meerschweinchenblut nach Zusatz des Blutes sofort erfolgend.

Versuch 12. a) 12 ccm Meerschweinchenhirn + 2 ccm Rizinlösung; b) 12 ccm Meerschweinchenhirnaufschwemmung + 2 ccm NaCl-Lösung. Agglutination des aus dem Zellagglutinat wieder freigemachten Rizins mit 2 %igem Katzenblut 2 Stunden nach Zusatz des Blutes.

Durch vorstehende Versuche glaube ich dargetan zu haben:

1. Dass rizinhaltige Auszüge aus entölten Rizinussamen die gewaschenen isolierten Zellen des Gehirns vom Hund, Igel, Kaninchen, Schwein und Meerschweinchen agglutinieren.

2. Dass sich dabei das Rizin in den Zellen „verankert", oder, wie wir im Sinne der physikalischen Chemie es wohl ausdrücken müssen, dass das Rizin dabei von gewissen Bestandteilen der Zellen analog gewissen Enzymen adsorbiert wird. Durch physiologische Kochsalzlösung kann das Gift in diesem Stadium den Zellen dann nicht entzogen werden.

3. Dass verdünnte Salzsäure das Gift geradeso wie gewisse Enzyme wieder frei macht, so dass es (auch noch sofort nach dem Neutralisieren) jetzt ausgezogen werden kann.

4. Dass dieses freigemachte Toxin sich jetzt an Blutkörperchen ganz anderer Tiere verankern und diese agglutinieren kann, d. h. dass es hier als Agglutinin wirkt. Gerade die Aussenschicht der Blutkörperchen, welche ausserordentlich lipoidreich ist, ist dazu sehr gut geeignet. Wissen wir doch durch Centanni,[1]) dass die Lipoide die Wirkung gewisser Enzyme nicht nur befördern, sondern dass sie zum Zustandekommen dieser Wirkung unbedingt nötig sind. Alles dies kann für das enzymartig wirkende Rizin ebenfalls in Betracht kommen. Seine Wirkung auf Gehirnzellen wie auf Blutkörperchen ist im Sinne der physikalischen Chemie eine prinzipiell gleichartige. Dies lässt sich nur unter der Annahme erklären, dass ein und dieselbe Substanz sich sowohl mit Gehirn als auch mit Blutkörperchen verbindet, d. h. dass Rizintoxin der Gehirnzellen und Rizinagglutinin beliebiger Blutkörperchen identisch sind.

II. Versuche über die Einwirkung von Rizin auf isolierte Leberzellen.

In einer Arbeit „Beitrag zur Frage der entgiftenden Rolle der Leber im tierischen Organismus" ist W. N. Woronzow[2]) unter anderem zu folgendem Ergebnis gekommen: Durchströmt man die entblutete Leber von Kaninchen, Katzen mit Ringerlösung $+ O_2$ unter Zusatz von Curare, Nikotin, Aconitin, Muscarin, Digitalin, Atropin, Physostignin, Rizin, Pilocarpin, Phenol, Strychnin, Adrenalin, so werden diese Gifte teilweise, Rizin und Muscarin aber total entgiftet, wohl weil das Organ einen Teil des Giftes verankert. Analog den nun bisher beschriebenen

[1]) Centanni, Biochem. Zeitschr. Bd. 29, 1910, S. 389.

[2]) Woronzow, Beitr. z. Frage d. entgiftenden Rolle d. Leber im tierischen Organismus. Diss. Dorpat, 1910.

Versuchen mit den Hirnzellen verschiedener Tiere schien es mir auf Woronzows Versuche hin lohnend, analoge Versuche auch mit Leberzellen anzustellen. Man kann auch diese in zerriebenem, blutfreiem Zustande gewinnen. Es musste nur festgestellt werden, ob sie sich in diesem Zustande mit dem Rizin verbinden und ob man es ihnen dann durch das oben beschriebene Verfahren wieder entziehen und durch den Blutversuch die Agglutinationswirkung des Giftes erweisen kann.

Versuch 13. a) 20 ccm blutfreie Igelleberaufschwemmung + 2 ccm meines oben beschriebenen Rizinusauszugs; b) 20 ccm Igelleberaufschwemmung + 2 ccm NaCl-Lösung.

In a tritt nach einer Stunde deutliche Schichtung ein, in Glas b keine Veränderung. Beide Portionen werden filtriert, und die Filtrate mit 2 %igem Hühnerblut angesetzt. Sie ergeben keine Agglutination, was beweist, dass in den mit Rizin versetzten Flüssigkeitsmengen das Rizin an die Leberzellen gebunden ist. Die Filterrückstände werden in der oben beschriebenen Weise mit Salzsäure behandelt, und es ergibt sich nach Zusatz von 2 %iger Suspension von Hühnerblut in dem Endfiltrat von a nach 12 Stunden Agglutination, in dem Endfiltrat von b keine Agglutination.

Versuch 14. a) 20 ccm blutfreie Katzenleberaufschwemmung + 2 ccm Rizinusauszug; b) 20 ccm Katzenleberaufschwemmung + 2 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte mit 2 %iger Suspension von Hühnerblut nach 12 Stunden.

Versuch 15. a) 25 ccm blutfreie Froschleberaufschwemmung + 5 ccm Rizinusauszug; b) 25 ccm Froschleberaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte nach Zusatz von 2 %iger Suspension von Katzenblut wenige Minuten später.

Versuch 16. a) 25 ccm blutfreie Kaninchenleberaufschwemmung + 5 ccm Rizinusauszug; b) 25 ccm Kaninchenleberaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte mit 2 %iger Suspension von Kaninchenblut nach 3 Stunden.

Versuch 17. a) 25 ccm blutfreie Meerschweinchenleberaufschwemmung + 5 ccm Rizinusauszug; b) 25 ccm Meerschweinchenleberaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte mit 2 %iger Suspension von Meerschweinchenblut sofort nach Zusatz des Blutes.

Nach den Versuchen des ersten Kapitels hätte man versucht sein können zu glauben, dass das Rizin nur zwei Wirkungen besitze, deren erste darin besteht, sich mit Gehirnzellen zu verbinden, und die toxischen, in vita beobachteten Wirkungen des Giftes erklärt, während die zweite im Reagensglasversuch mit Blut zu erzielende Wirkung als Hämagglutination zu bezeichnen ist. Die obigen Versuche zeigen, dass damit die Wirkungen des Rizins nicht erschöpft sind; es hat auch die

Fähigkeit, sich in ganz analoger Weise im Sinne der physikalischen Chemie durch Adsorption mit Leberzellen zu verbinden. So wird es verständlich, dass bei innerer Darreichung von Rizin eine hundertmal grössere Dose nötig ist, als bei subkutaner Applikation. Von dem dem Entgiftungsprozess durch Trypsin entgangenen resorbierten Gifte bleibt eben der grösste Teil bei Durchgang durch die Leber in dieser sitzen, und das Gehirn bleibt vor der Einwirkung dieses Teiles verschont. Meine Versuche bilden also eine Ergänzung der von Woronzow angestellten.

III. Über die Einwirkung des Rizins auf isolierte Zellen noch anderer Organe.

Nachdem es mir gelungen war, das Rizin an Gehirn- und an Leberzellen zu ketten, schien der Versuch, es auch in anderer Weise noch zu binden, berechtigt. Das Nachstehende zeigt, welche Zellarten ich dazu herangezogen habe.

Versuch 19. a) 25 ccm blutfreie Meerschweinchennierenzellenaufschwemmung + 5 ccm der zu allen früheren Versuchen benutzten Rizinlösung; b) 25 ccm ebensolche Meerschweinchennierenzellenaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte mit 2 %iger Suspension von Meerschweinchenblut sofort nach Zusatz des Blutes.

Versuch 20. a) 25 ccm Aufschwemmung von blutfreien Kalbsthymuszellen + 5 ccm Rizinlösung; b) 25 ccm ebensolche Kalbsthymuszellen + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte mit 2 %iger Suspension von Kalbsblut nach 12 Stunden.

Versuch 21. a) 25 ccm blutfreie Kalbsmilzzellenaufschwemmung + 5 ccm Rizinlösung; b) 25 ccm ebensolche Kalbsmilzzellenaufschwemmung + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte mit 2 %iger Suspension von Kalbsblut nach 12 Stunden.

Bei Versuch 20 und 21 tritt bei Verwendung von 2 %igem Meerschweinchenblut sofort nach Zusatz dieses Blutes Agglutination ein.

Versuch 22. a) 15 ccm Aufschwemmungen von blutfreien Hundedünndarmzellen + 5 ccm Rizinlösung; b) 15 ccm derselben Hundedünndarmzellen + 5 ccm NaCl-Lösung. Agglutination durch das wieder freigemachte Rizin erfolgte mit 2 %iger Suspension von Hundeblut wenige Minuten nach Zusatz des Blutes. Die Dünndarmzellen waren mit einem stumpfen Messer von der sehr gut gereinigten Darmschleimhaut abgeschabt und in derselben Weise zubereitet worden wie die Hirnzellen vom Hunde. Das sie begleitende Muzin hatte die Agglutination nicht verhindert.

Somit muss als bewiesen gelten, dass auch Nieren-, Milz-, Dünndarm- und Thymuszellen Rizin im Sinne von Ehrlich zu verankern und im Sinne der physikalischen

Chemie zu adsorbieren vermögen. Ich komme also zu dem Ergebnis, dass die Fähigkeit, das Rizin der umgebenden Flüssigkeit zu entziehen, wohl allen oder jedenfalls recht verschiedenartigen lipoidreichen (drüsigen und nicht drüsigen) Zellen zukommt. Es lässt sich daraus schliessen, dass bei der Rizinvergiftung wohl die verschiedensten Organe in Mitleidenschaft gezogen werden, und das Gift dem vorbeiströmenden Blute entziehen und wenigstens zeitweise speichern. Einige Organe, wie das Gehirn, werden dabei infolge des hohen Lipoidgehaltes ihrer Zellen besonders rasch funktionsunfähig, während in anderen nur ein Teil der Zellen erkrankt. Eine Trennung des Rizins in ein Toxin und in ein Agglutinin, von denen das letztere intra vitam keine Rolle spiele, erscheint unter solchen Umständen nicht mehr berechtigt, sondern wir müssen sagen: Die im Reagensglas schon makroskopisch als eine Art von Agglutination sich darstellende auf Rizinadsorption beruhende schwere Alteration des Protoplasmas lebenswichtiger Organe, namentlich des Gehirns, bildet das toxische Moment, an dem der Organismus bei der Rizinvergiftung stirbt. Das Blut kann in diesem Stadium bereits wieder völlig rizinfrei sein und gegen neu zugesetztes Rizin im Reagensglas bei 50- bis 100facher Verdünnung wie normales Blut reagieren.

IV. Analoge Versuche mit den beiden käuflichen Rizinpräparaten und dem käuflichen Bohnenphasin (Merck).

Ausser dem oben beschriebenen in Kap. I—III durchgängig verwendeten 10 %igen Rizinauszug wurden nun Versuche angestellt mit folgenden Lösungen. In 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung werden aufgelöst: 1.4 g Rizin-Merck, 1.5 g Rizin-Schuchardt und 1.25 g Bohnenphasin. Betreffs dieser Präparate sind folgende Bemerkungen nötig. Das Rizin-Merck ist nach der Dialysenmethode und das Rizin-Schuchardt nach der Methode der Alkoholfällung dargestellt, d. h. beide sind auf prinzipiell ganz verschiedenen Wegen abgeschieden. Das Bohnen-Phasin ist nach der Alkoholfällungsmethode, wie sie von Wienhaus[1]) und Assmann[2]) beschrieben ist, dargestellt worden.

[1]) Wienhaus, Zur Biochemie des Phasins. Biochem. Zeitschr. 18, 1909, H. 3—5.

[2]) Fr. Assmann, Beiträge zur Kenntnis pflanzlicher Agglutinine. Pflügers Archiv, Bd. 137, 1911, S. 489.

Nach vierundzwanzigstündigem Stehen im Wasserbad bei 38° werden die Lösungen filtriert; das Filtrat enthält nun den löslichen organischen Anteil dieser 3 Präparate und zwar nach Ausschaltung der Asche und der unlöslich bleibenden Teile gerade in 1 %iger Lösung. In dieser Lösung befindet sich auch das Rizin, dessen genauere Mengenbestimmung aber fehlt.

Es werden aufgestellt von einem Schweinchen

1. 10 ccm blutfreie Hirnzellen + 5 ccm Bohnenphasin (0.05 Lösliches).
2. 10 „ „ „ + 5 „ Rizin-Schuchardt (0.05 Lösliches).
3. 10 „ „ „ + 5 „ Rizin-Merck (0.05 Lösliches).
4. 10 „ „ „ + 5 „ 0.9 %ige NaCl-Lösung.

Die ersten drei Gläser agglutinieren sofort, ebenfalls werden aufgestellt:

1. 10 ccm blutfreie Leberzellen + 5 ccm Bohnenphasin (0.05 Lösliches).
2. 10 „ „ „ + 5 „ Rizin-Schuchardt (0.05 Lösliches).
3. 10 „ „ „ + 5 „ Rizin-Merck (0.05 Lösliches).
4. 10 „ „ „ + 5 „ NaCl-Lösung.

Auch hier agglutinieren die drei ersten Gläser sofort. Behandelt man nun die mit Rizin versetzten Gläser, welche Hirnaufschwemmung enthalten, ebenso wie die Gläser, welche Leberaufschwemmung enthalten, nach der in den obigen Versuchen beschriebenen Weise, so lässt sich auch hier z. B. mit 2 % Hammelblut zum Schluss Agglutination nachweisen.

Ergebnis: Diese Versuche beweisen, dass die beiden Handelspräparate von Rizin sich wie mein selbsthergestellter Rizinusauszug verhalten, d. h. dass sie sich erst an Organzellen und nach dem Freimachen daraus an Blutkörperchen verankern lassen, mithin eine einheitlich-wirksame Substanz enthalten, die eben das Rizin sein muss. Weiter ergeben obige Versuche, dass auch die ganz ungiftige agglutinierende Substanz der Bohnen, das sogen. Bohnenphasin, in analoger Weise wie das Rizin sich sowohl mit Organzellen einerseits und Blutzellen andererseits verbinden kann, und dass es möglich ist, das aus den Organzellen abgeschiedene Phasin nun nachträglich mit Blutkörperchen zu verankern. Folglich kann auch hier nicht ein Toxin neben einem Agglutinin angenommen werden, sondern sowohl beim Rizin als beim Bohnenphasin hat ein und dieselbe Substanz zweierlei Eigenschaften, ist aber keineswegs ein Gemisch zweier ganz verschiedener Substanzen. In allen Fällen zeigt die Verankerung und das Wiederfreiwerden sowohl des Rizins als des Phasins unleugbare Analogien zu gewissen Enzymen und legt den Gedanken nahe, dass Rizin und Phasin selbst Enzymcharakter haben.

V. Über die Einwirkung des aus Organzellen wieder freigemachten Rizins auf lebende Tiere.

Falls meine Deduktion, dass aus den Organzellen sich wirkliches „Vollrizin“ abspalten und an Blutkörperchen verankern lässt, richtig ist, muss sich dies auch dadurch noch weiter erklären lassen, dass das aus den Blutkörperchen wieder abgeschiedene Agglutinin bei Einspritzung am Tier sich als Toxin erweist. Zu diesem Behufe wurde folgender Doppelversuch gemacht.

Isolierte blutfreie Zellen der Nebenniere eines Kaninchens und isolierte Gehirnzellen von Kaninchen werden in physiologischer Kochsalzlösung verrieben und dann zu Versuchen aufgestellt.

Glas 1: 10 ccm Nebennierensubstanz + 1 ccm Rizin-Merck,
Glas 2: 10 „ „ + 1 „ NaCl-Lösung,

nach 3 Minuten im Glas 1 deutliche Zusammenballung der Zellen; ebenso

Glas 3: 10 ccm Hirnzellen + 1 ccm Rizin-Merck,
Glas 4: 10 „ „ + 1 „ NaCl-Lösung.

Auch hier erfolgt nach 3 Minuten im Glase 3 deutliche Zusammenballung der Zellen.

Die agglutinierten Portionen, d. h. einerseits die Nebennierenzellen und andererseits die Gehirnzellen, werden auf 2 Filtern gewaschen, die Filtrate von Zeit zu Zeit mit Blut geprüft, bis keine Agglutination mehr eintritt, dann beide Filterrückstände mit HCl versetzt, nach $^1/_2$ Stunde neutralisiert, filtriert und mit je 5 ccm 2 %igem Kaninchenblut zur Agglutination angesetzt. Es ergibt sich nach $^1/_2$ Stunde in beiden Fällen totale feste Agglutination. Beide Blutkörperchenagglutinate werden nun mit HCl versetzt, der Auszug neutralisiert, filtriert und die Filtrate je einem Kaninchen von 850 und 800 g Gewicht injiziert. Die Tiere starben beide nach 24 Stunden.

Ergebnis. Ein und dieselbe Substanz aus dem Rizin-Merck wurde hier erst an Organzellen (Nebennierenzellen bezw. Gehirnzellen) verankert, dann daraus nach gehörigem Wegwaschen des überschüssigen Giftes aus den Zellen freigemacht, an Blutkörperchen verankert und nach gehörigem Waschen auch daraus wieder freigemacht und erwies sich nun noch als tödlich wirkend für Kaninchen. Dies lässt keine andere Deutung zu, als dass das im Rizinpräparat enthaltene Agglutinin der Organzellen, das darin enthaltene Agglutinin der Blutkörperchen und das darin enthaltene Toxin ein und dieselbe Substanz sind. Das Mercksche Rizin enthält also ebensowenig als mein eigener Rizinusauszug ein Gemisch von Rizintoxin mit Rizinagglutinin.

VI. Über den Einfluss von Lezithin und Cholesterin auf Rizin.

Wie bereits erwähnt, hat Lau[1]) seinerzeit als erster in einer unter Koberts Leitung ausgeführten Arbeit auf die Fähigkeit des Rizins, Abrins und Crotins, sich mit vielen lipoidreichen Zellen des Körpers chemisch verbinden zu können, hingewiesen. In Emulsionen von Gehirn-, Leber- und Nierenzellen des entbluteten Meerschweinchens und in den Gehirnzellen des Hammels führten die drei Gifte alsbald zur Agglutination. Die verklumpten Zellen bildeten einen Bodensatz, die darüberstehende Flüssigkeit war klar. Diese Versuche wurden in einer Arbeit von Michaelis und Steindorff[2]) 1907 nachgeprüft insbesondere mit Leberzellen, Nierenzellen und Milz des Meerschweinchens, sowie mit der Aufschwemmung eines Skirrus der Mamma und eines Karzinomes der Maus. Auch diese Autoren kamen zu dem Resultat, dass Organzellen, soweit sie sich in emulgierter Form zubereiten lassen, prinzipiell in derselben Weise agglutinierbar sind, wie rote Blutkörperchen. Ich kann mich, wie aus den Versuchen der vorstehenden Kapitel hervorgeht, dieser Ansicht durchaus anschliessen.

Es liegt nun nahe zu fragen, mit welchen Stoffen das Rizin sich verbindet, und zu untersuchen, ob im Reagenzglas eventuell sich eine Verbindung von Rizin z. B. mit Lezithin oder Cholesterin herbeiführen lasse. Die folgenden zu diesem Zwecke angestellten Versuche ergaben ein negatives Resultat. Ich spreche zunächst über Lezithin.

Zwei Messerspitzen Lezithin-Riedel (100 %) werden, in 50 %igem Alkohol gelöst, in der Reibschale mit der zehnfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verrieben; die grösseren Partikel werden durch ein feines Maschennetz zurückgehalten, so dass als Versuchslösung eine feine Emulsion verwendet wird. Als Rizinlösung wurde eine 1 %ige Lösung von Rizin-Merck in physiologischer NaCl-Lösung verwendet.

Versuch 1. Es werden nun aufgestellt:

a) 5 ccm NaCl-Lösung + 2 ccm Rizin-Merck.

b) 5 ccm Lezithinemulsion + 2 ccm Rizin-Merck.

Nach 24stündigem steten und wiederholten Umschütteln werden je 1 ccm von a und b zu 5 ccm 2 %igem Rinderblut hinzugesetzt. Nach zehn

[1]) Lau, Über vegetabilische Blutagglutinine. Diss., Rostock 1901.

[2]) Michaelis u. Steindorff, Biochem. Zeitschrift, Bd. 2, 1907, S. 43.

Minuten beginnt in beiden Gläsern bereits Agglutination. Nach 5 Stunden ist die obere Schicht in dem mit NaCl-Lösung versetzten Glase ganz klar; am Boden liegen die agglutinierten Blutkörperchen; in dem mit Lezithin versetzten Glase hingegen ist die obere Schicht noch rosa gefärbt und die Agglutination nur schwach angedeutet.

Der Versuch wird wiederholt mit einer, wie oben beschrieben, zubereiteten, jedoch genau eingestellten etwa 5 %igen Lösung von Lezithin. Als Rizinlösung verwendet wurde eine 1 %ige Lösung von Rizin-Merck, von Rizin-Schuchardt und von Phasin-Merck in NaCl-Lösung.

Versuch 2. Es werden aufgestellt:

1. 5 ccm Lezithin + 5 ccm Rizin-Merck.
2. 5 „ „ + 5 „ Rizin-Schuchardt.
3. 5 „ „ + 5 „ Bohnenphasin.
4. 5 „ „ + 5 „ NaCl-Lösung.

Die agglutinierende Wirkung der verwendeten Rizinlösungen wurde geprüft, indem 1 ccm jeder Lösung nach Zusatz zu 10 ccm 2 %iger Rinderblutsuspension diese stets sofort agglutinierte. Nach 24 Stunden hat sich am Boden sämtlicher Gläser eine dickere Schicht gebildet. Es werden in den Gläsern die oberen Schichten und der Bodensatz gesondert, mit 2 %igem Rinderblut angesetzt und folgende Mischungen aufgestellt:

1. Obere Schicht: Lezithin + Rizin-Merck + 5 ccm 2 %iges Rinderblut,
2. „ „ „ + Rizin-Schuchardt + 5 ccm 2 %iges Rinderblut,
3. „ „ „ + Bohnenphasin + 5 ccm 2 %iges Rinderblut,
4. „ „ „ + NaCl-Lösung + 5 ccm 2 %iges Rinderblut,
5. Bodensatz: Lezithin + Rizin-Merck + 3 ccm 2 %iges Rinderblut,
6. „ „ + Rizin-Schuchardt + 3 ccm 2 %iges Rinderblut,
7. „ „ + Bohnenphasin + 3 ccm 2 %iges Rinderblut,
8. „ „ + NaCl-Lösung + 3 ccm 2 %iges Rinderblut.

In den Gläsern 1, 2, 3, 5, 6, 7 tritt nach zehn Minuten deutliche beginnende Agglutination ein, was beweist, dass das Lezithin das Rizin nicht unter Inaktivierung gebunden haben kann. Nach 24 Stunden ist die Agglutination in den Lezithin-Bodensatzgläsern 5, 6, 7 ausgesprochener wie in den Gläsern 1, 2, 3.

Dieser Versuch legt den Schluss nahe, dass vielleicht das Lezithin im Bodensatz zwar mit Rizin eine Verbindung, jedoch nur eine lockere und nicht etwa inaktive eingegangen ist, da das Rizin bei Zusatz von Blut letzteres sehr schnell agglutinierte.

Durch eine andere Versuchsanordnung lässt sich ebenfalls sehr deutlich zeigen, dass das Lezithin keine inaktive Verbindung mit dem Rizin im Reagenzglas eingeht.

Versuch 3. Verwendet wird dieselbe Lezithin-Emulsion und die 1 %ige Rizinlösung des MERCKschen Präparates. 7 ccm Lezithin + 3 ccm Rizin-Merck

werden im Reagenzglas unter wiederholtem Umschütteln eine halbe Stunde im Wasserbade bei 50° gehalten, danach aufgestellt von dieser Lösung:

3 ccm (Lezithin + Rizin-Merck) + 2 ccm NaCl-Lösung + 5 ccm 2 %iges Taubenblut, und ebenso

3 ccm Lezithin-Emulsion + 2 ccm NaCl-Lösung + 5 ccm 2 %iges Taubenblut.

Nach 1½ Stunde befinden sich im ersten Glase am Boden agglutinierte Klumpen von roten Blutkörperchen. Beide Gläser werden umgeschüttelt und filtriert, es gehen dann von dem 2. Glas die Blutkörperchen durch das Filter hindurch, von dem ersten bleiben die Blutkörperchen in Form fein verteilter siegellackartiger Klümpchen auf dem Filter zurück, woraus hervorgeht, dass das Rizin sofort auf die Blutkörperchen eingewirkt hat, also nicht mit dem Lezithin eine die Agglutination störende Verbindung eingegangen sein kann.

Versuch 4. Von einer 2 %igen Lösung von Cholesterin in 80 % Spiritus wird 1 ccm zu 9 ccm 1 %iger Lösung von Rizin-Merck hinzugesetzt; es bildet sich sofort ein feiner Niederschlag. Die Lösung wird nun im Wasserbad bei 50° eine halbe Stunde unter wiederholtem Umschütteln gehalten und dann filtriert. Auf dem Filter bleibt das meiste Cholesterin zurück. Von dem Filtrat werden 2 ccm mit 2 ccm NaCl zur Ausschaltung der Alkoholwirkung, die ja schon zur Genüge durch die starke Verdünnung mit der NaCl-Lösung des Rizins unwirksam gemacht war, vermischt und mit 5 ccm Taubenblut versetzt. Es tritt sofort totale Agglutination ein.

Versuch 5. Derselbe Versuch wird wiederholt mit 7 ccm der 1 %igen Lösung des Rizin-Merck + 3 ccm Cholesterin. Wie in Versuch 4 wird diese Mischung im Wasserbad bei 50° eine halbe Stunde lang gehalten, dann filtriert. Die ersten 3 ccm Filtrat werden mit 3 ccm 2 %igem Taubenblut versetzt und nach 5 Minuten filtriert; auf dem Filter bleiben agglutinierte Blutkörperchen zurück. Ebenso wird der Rest des Filtrates mit 3 ccm Taubenblut versetzt und nach 5 Minuten filtriert; auch hier blieben die roten Blutkörperchen agglutiniert als siegellackartige Masse auf dem Filter. Damit scheint mir bewiesen zu sein, dass das Cholesterin mit dem Rizin keine Verbindung, die sich anders als Rizin allein verhält, eingegangen sein kann.

Versetzt man die beiden zusammengerollten Filter im Reagenzglas mit 5 ccm NaCl + 2 Tropfen verd. Salzsäure und neutralisiert nach ½stündigem Stehen die Lösung, so kann man nach Filtrieren zeigen, dass dies Filtrat das den roten Blutkörperchen durch die Salzsäure entzogene Rizin enthält, denn nach Zusatz von 2 %igem Taubenblut tritt wiederum sofort Agglutination ein.

Prof. Kobert wiederholte diese Versuche mit Lezithin-Merck; das Ergebnis war aber kein anderes als mit dem Lezithin-Riedel. Auch bei Cholesterin änderte der Wechsel des Präparates nichts. Meist benutzte ich Gallensteincholesterin.

Ergebnis. Weder Lezithin noch Cholesterin gingen also eine unwirksame Verbindung mit Rizin ein, auch konnte ich niemals bei meinen Versuchen Hämolyse beobachten. Diese Versuche ergeben umgekehrt, dass die sogenannten Lipoide, d. h. Lezithin und Cholesterin, die Agglutination durch Rizin weder bei Organzellen noch bei Blutkörperchen

hindern. Dies habe ich auch gar nicht erwartet, denn nach den schon oben erwähnten Versuchen von Centanni wirken Lipoide auf Enzyme nicht nur nicht hindernd, sondern begünstigend. Dies ist insofern interessant und wichtig, als die Lipoide sich zu einigen anderen Blutgiften ganz anders verhalten. So werden z. B. alle Saponine und gewisse Schlangengifte durch Cholesterin in unwirksame Paarlinge umgewandelt, während allerdings die Lezithine die Wirkung der Saponine und Schlangengifte eher verstärken.

VII. Versuche über die Verdauung des Rizins.

Gegen die einheitliche Natur des Rizins hat sich vor allem der bekannte Pharmakologe Franz Müller[1]) in seiner Arbeit „Beiträge zur Toxikologie des Rizins" gewandt. Besonders auf Grund von Verdauungsversuchen mit Pepsin-Salzsäure kommt er zu der Ansicht, dass die Blutwirkung des Rizins im Gegensatz zu der Giftwirkung im lebenden Tier durch Pepsinverdauung aufgehoben werde. Dieses Ergebnis findet sich fast überall in der Literatur als feststehend wiedergegeben. Bei einer Nachprüfung kam ich jedoch zu anderen Resultaten; ich muss daher meine Versuche im einzelnen mitteilen. Zuvor aber scheint es mir notwendig, erst den Wortlaut der Müllerschen Versuche hier folgen zu lassen: „5 ccm Rizinlösung wurden 12 Stunden mit Pepsin-Salzsäure von 0.2 %igem HCl, die in 5 Minuten eine grössere Fibrinflocke glatt auflöste, bei 39° stehen gelassen, sodann alkalisch gemacht. Die verdaute Lösung zeigte keine konglutinierende Wirkung auf verdünntes Kaninchenblut." Es ist weder hieraus noch aus dem Zusammenhang zu ersehen, welche Konzentration die verwendete Rizinlösung hatte, und wieviel davon dem Blute zugesetzt wurde.

Zur Prüfung der Müllerschen Angaben stellte ich folgende Versuche an.

Eine 1 %ige Lösung von Rizin-Merck wurde 3 × 24 Stunden hintereinander mit Pepsinsalzsäure von 0.2 %igem HCl, die eine Fibrinflocke in einer halben Stunde glatt auflöste, bei 39° stehen gelassen. Ebenso wurde eine Kontrolle einer 1 %igen Lösung von Rizin-Merck mit Salzsäure von 0.02 %igem HCl-Gehalt 3 Tage bei 37—39° stehen gelassen. Verwendet wurde bei der ersten Lösung Pepsin-Witte.

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. **42**, 1899, S. 302.

Nach der angegebenen Zeit wird ein Teil der Flüssigkeit neutralisiert und vom Filtrat 10 ccm mit 10 ccm 2 %igem Katzenblut versetzt. Es tritt sofort Agglutination ein. Beim Filtrieren bleiben auf dem Filter die agglutinierten roten Blutkörperchen in siegellackartigen Klümpchen zurück.

Ebenso kann man nach Neutralisieren der Kontrolle zeigen, dass das Rizin sofort agglutinierend wirkt. Man kann nun die Agglutination noch stets deutlich nachweisen, wenn von beiden Verdünnungen 1 ccm neutralisiertes Filtrat der 1 %igen Lösung auf 10, 30, 100, 200, 500 ccm 2 %iges Katzenblut verwendet wird, und kann durch eine frisch zubereitete Lösung zeigen, dass diese durchaus nicht stärker agglutinierend wirkt, als die 3 Tage mit Pepsin-Salzsäure anverdaute Rizinlösung.

Dieser Versuch zeigt, dass Pepsinsalzsäure selbst bei dreitägiger Verdauung das Rizin in seiner agglutinierenden Kraft nicht zu schwächen vermag.

Da bei den Müllerschen Versuchen möglicherweise das sich bei der Pepsinverdauung bildende Pepton die Agglutination gehindert haben kann, so werden folgende Versuche angestellt:

A.	1 ccm	Pepton (1:20)			+ 9 ccm	NaCl	+ 5 ccm	2 %iges	Kaninchenblut.
	1 „	„	+ 1 ccm	Rizin	+ 8 „	„	+ 5 „	„	„
	1 „	„	+ 2 „	„	+ 7 „	„	+ 5 „	„	„
	1 „	„	+ 3 „	„	+ 6 „	„	+ 5 „	„	„
	1 „	„	+ 4 „	„	+ 5 „	„	+ 5 „	„	„
	1 „	Rizin			+ 9 „	„	+ 5 „	„	„

Nach wenigen Minuten sieht man in der Kontrolle, die nur Rizin bekommen hat, bereits am Boden einen dicken siegellackartigen Niederschlag, in den anderen Gläschen aber ist makroskopisch kein Niederschlag zu sehen, nur bei sorgfältiger Prüfung dünner Schichten sieht man, dass die Agglutination doch überall angefangen hat. Nach 24 Stunden ist in allen Gläsern ausser Glas 1 Agglutination deutlich nachzuweisen.

B.	1. 1 ccm	Pepton			+ 9 ccm	NaCl	+ 5 ccm	Kaninchenblut.	
	2. 1 „	Rizin	+ 1 ccm	Pepton	+ 8 „	„	+ 5 „	„	
	3. 1 „	„	+ 2 „	„	+ 7 „	„	+ 5 „	„	
	4. 1 „	„	+ 3 „	„	+ 6 „	„	+ 5 „	„	
	5. 1 „	„	+ 4 „	„	+ 5 „	„	+ 5 „	„	
	6. 1 „	„	+ 9 „	NaCl.					

Auch hier in Glas 6 nach wenigen Minuten deutlich eintretende Agglutination. Nach 3 Stunden werden filtriert Glas 1, 2, 4 und 5. In Glas 2 ist die Agglutination am deutlichsten durch die auf dem Filter zurückbleibenden roten Blutkörperchen, in Glas 4 und 5 weniger deutlich. Die Agglutination fehlt natürlich ganz in Glas 1. Blut überall 2 %ig.

C.	1. 1 ccm	Rizin	+ 5 ccm	Pepton	+ 10 ccm	2 %iges	Kaninchenblut.	
	2. 1 „	„	+ 7 „	„	+ 10 „	„	„	
	3. 1 „	„	+ 10 „	„	+ 10 „	„	„	
	4. 1 „	„	+ 5 „	NaCl	+ 10 „	„	„	

Die Agglutination wurde in Glas 2 und 3 verzögert, aber nicht vollkommen aufgehoben; sie war nach 24 Stunden noch in sämtlichen Gläsern nachzuweisen.

D. 1 ccm Rizin + 9 ccm Pepton
1 „ „ + 9 „ NaCl } + 3 Tropfen unverdünntes Kaninchenblut.

Nach 24stündigem Stehen ergibt die Untersuchung, dass das Pepton die Agglutination gehindert, aber keine Hämolyse verursacht hat.

Dieser vierfache Versuch beweist, dass das Pepton die Agglutination durch Rizin zwar verlangsamt, aber keineswegs ganz aufhebt, wofern die Dose des Peptons nicht übergross ist. Es ist daher kaum anzunehmen, dass in den MÜLLERschen Versuchen das gebildete Pepton die agglutinierende Wirkung gehindert hat.

Ich lasse noch einige weitere Versuche folgen, die zur Klärung der Beurteilung der MÜLLERschen Versuche herangezogen werden können.

20 ccm Kaninchenhirnzellenbrei werden mit 5 ccm Rizinlösung, entsprechend 0.2 g Same, versetzt. Es erfolgt sehr rasch Agglutination der Hirnzellen, so dass rasche Filtration möglich wird. Zu dem klaren Filtrat werden nochmals Hirnzellen gesetzt, bis eine Probe des neuen Filtrates auf weitere Hirnzellen nicht mehr wirkt. Nun wird zum Gesamtfiltrat tropfenweis unverdünntes Menschenblut gesetzt, welches aber gar nicht agglutiniert wird.

Wenn Hirnzellen nur das Toxin aufzunehmen imstande wären und neben diesem Toxin ein gesondertes Agglutinin vorhanden wäre, hätte hier die Gesamtmenge des Agglutinins noch vorhanden sein müssen. Da aber im zugesetzten Blute auch nicht einmal beim ersten Tropfen Agglutination stattfand, ist die Annahme, dass ein gesondertes Toxin für Gehirnzellen neben einem nur auf Blut wirkenden Agglutinin vorhanden sei, als unrichtig erwiesen.

Bei einem zweiten Versuch werden wiederum 20 ccm Hirnzellenbrei mit 5 ccm Rizinlösung (0.2 g Same entsprechend) versetzt. Das nach erfolgter Agglutinierung erhaltene Filtrat wird nach und nach mit 10 ccm unverdünntem Kaninchenblut versetzt, wobei die letzten 2 ccm nicht mehr agglutiniert werden. Nun wird filtriert und die durchs Filter gegangenen Blutkörperchen durch Zentrifugieren entfernt. Die dadurch erhaltene klare Flüssigkeit war weder imstande, auf Blutkörperchen noch auf Hirnzellen irgend welche sichtbare Wirkung auszuüben.

Trotzdem wirkten 5 ccm davon, einem Mittelkaninchen subkutan eingespritzt, binnen 24 Stunden tödlich.

Dieser Versuch beweist, dass die Absorption des Rizins sowohl durch Gehirnzellen als durch Blutkörperchen Spuren des Giftes ungebunden lässt, die bei der enormen Empfindlichkeit der Kaninchen diese noch zu töten imstande sind. Analog wie Fermentprozesse niemals ganz quantitativ verlaufen, sondern Spuren der zu zersetzenden Substanz unzersetzt lassen, so ist auch der physikalisch-chemische Prozess der Adsorption des Rizins und wohl aller Agglutinine an die Zellen ein nicht genau quantitativer. Dies muss man berücksichtigen, falls man den folgenden Versuch richtig deuten will.

Zu 5 ccm Rizinlösung (0.2 g Same entsprechend) werden so lange Kaninchenblutkörperchen gesetzt, bis auch nach 24stündiger Einwirkung keine Agglutination mehr stattfindet. Nun wird filtriert, aus dem roten Filtrat die durchgegangenen Blutkörperchen abzentrifugiert und von der neuen klaren, farblosen Flüssigkeit 5 ccm einem Mittelkaninchen unter die Haut gespritzt. Nach 24 Stunden ist das Tier schwer krank und bald darauf stirbt es. Die Sektion ergibt punktförmige Ekkymosen im Netz und auf bezw. unter der Serosa des Ileums. Die Plaques des Darmkanales sind z. T. geschwollen und gerötet, ebenso die Mesenterialdrüsen. In der Bauchhöhle findet sich ein seröser mässiger Erguss. Alle diese Befunde sprechen für eine typische Rizinusvergiftung.

Die Anhänger der Ansicht Müllers werden geneigt sein, aus diesem Versuche zu schliessen, dass er ihre Ansicht als richtig erweise. Es sei eben durch die roten Blutkörperchen nur das Agglutinin, aber fast gar nichts vom Toxin verankert, und dieses habe daher das Kaninchen getötet. Ich bin der Ansicht, dass auch hier lediglich eine nicht ganz quantitative Bindung des Rizins an die Blutkörperchen stattfand. Der nicht gebundene minimale Rizinrest war noch gross genug, klassische Vergiftung des Tieres hervorzurufen.

Ich glaube aus dem von mir vorgebrachten tatsächlichen Material den Schluss ziehen zu können, dass die Müllerschen Versuche, auf denen sich die Annahme eines gesonderten Rizintoxins und Rizinagglutinins aufbaut, nicht die Beweiskraft haben, welche man ihnen ganz allgemein bisher zugeschrieben hat.

VIII. Wirkung des Rizins auf Kaltblüter.

In der anfangs zitierten Arbeit von Cushny[1]) berichtet dieser über Versuche, die er mit Fröschen unternommen hat und gibt an, dass es ihm gelungen sei, nach einiger Zeit starke Blutungen im Magen zu erhalten, ja dass er mit dem Mageninhalt weitere Frösche vergiften konnte. Die von ihm angewandten Dosen sind leider nicht genau angegeben. Versuche, die ich in dieser Hinsicht anstellte, führten mich zu etwas anderen Resultaten, die ich hier mitteile.

Versuch 1. Injiziert wurden 4 Kröten und zwar
2 Kröten mit 2 ccm eines 2 %igen Rizinauszuges,
2 „ „ 4 „ „ 2 „ „ und zwar
je 2 ccm an 2 aufeinander folgenden Tagen.

Die Kröten starben nach 2 resp. 3 Tagen mit dem typischen Rizinbefund, d. h. sie zeigten Injektion des Magens und des Darms; sonst keine auffallenden Veränderungen. Kein blutiger Schleim im Magen.

Der Magendarminhalt einer Kröte, die 4 ccm erhalten hatte, sowie die Magendarmschleimhaut wurden in einem Mörser mit Sand und 10 ccm NaCl, sowie mit 2 Tropfen HCl verrieben und das neutralisierte Filtrat einem Kaninchen von 1500 g injiziert, das nach 2 Tagen starb und folgenden Befund aufwies: Blutungen im Netz, Hyperämie des Darmes, Schwellung des lymphatischen Apparates. In den Organen des Tieres fand sich mikroskopisch folgendes. Milz sehr blutreich; in den Follikeln weniger als in der Pulpa sieht man fast auf jedem Schnitt mehrere Leukocyten mit weitgehenden Kernveränderungen und häufig freiliegende Kerntrümmer beieinander.

Knochenmark blutreich, im übrigen ziemlich starkes Fettmark. Von den weissen Blutkörperchen zeigt ein sehr grosser Teil intensive Zerfallerscheinungen. Es scheinen ein- und mehrkernige Zellen davon betroffen zu sein. Rote Blutkörperchen unverändert.

Niere, zahlreiche verfettete Glomeruli und Kanälchen, neben ganz normalen; viele Gefässe sind dicht mit Blutkörperchenhaufen angefüllt. Auffallend an diesen mit Blut gefüllten Gefässen ist die Verfettung der Endothelien.

Versuch 2. Ferner erhielten 4 Frösche von einer 5 %igen Emulsion:
3 Frösche je 2 ccm einer 5 %igen Rizinusölemulsion.
1 Frosch 4 „ „ 5 „ „

Alle 4 Frösche starben ohne auffallenden Befund, die am stärksten injizierten Gefässe zeigte der Frosch mit 4 ccm Injektionsflüssigkeit. Doch war bei keinem blutiger Mageninhalt nachzuweisen.

Versuch 3. Es wurden injiziert
9 Fröschen je 2 ccm eines 2 %igen Rizinusauszugs.
Davon starben 4 nach 2 Tagen,
4 nach 1 Tag,
1 nach 3 Tagen.

---

[1]) Cushny, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. Bd. **41**, 1898, S. 439.

Drei davon hatten blutigen Schleim im Magen. Dieser blutige Schleim zweier Frösche wurde mit NaCl-Lösung und 2 Tropfen HCl versetzt und an zwei aufeinanderfolgenden Tagen zu je 5 ccm einem Kaninchen von 1400 g injiziert. Das Kaninchen starb plötzlich am Nachmittag des 2. Tages unter Krämpfen.

Sektionsbefund des Kaninchens: Injektionsstelle und Brusthöhle normal. Bauchfell glatt, in der Bauchhöhle keine Ergüsse. Im grossen Netz einige punktförmige Blutungen, mehrere flache Blutungen in der Schleimhaut des Dünndarms und des Coecums. Dünndarm in seiner ganzen Ausdehnung hyperämisch. Peyersche Plaques geschwollen, blutreich. Mesenterialdrüsen stark vergrössert und sehr blutreich. Knochenmark hyperämisch.

Ergebnis. Der anatomische Befund auch dieses Kaninchens entspricht vollkommen dem bei Rizinvergiftung der Warmblüter. Daraus ist zu schliessen, dass in dem Mageninhalt der beiden Frösche und in Versuch 1 im Mageninhalt der Kröte Rizin enthalten gewesen ist.

Versuch 4. Es erhielten 3 Frösche 4 ccm 2 %igen Rizinusauszug, je 2 ccm an 2 aufeinanderfolgenden Tagen, und zwar starb 1 nach 3 Tagen und 2 nach 2 Tagen. Die Veränderungen pathologischer Art bestanden in Injektion der Gefässe des Magens und Darms. Kein Mal enthielt der Magen blutigen Schleim.

Versuch 5. Agglutinationsversuche mit dem Mageninhalt zum Nachweis des Rizins wurden zahlreich angestellt, aber alle mit negativem Ergebnis. Der Magendarminhalt wurde in einer Reibschale zusammen mit dem Magen, Darmschleimhaut mit NaCl + 2 Tropfen HCl versetzt und mit Sand zerrieben, nach 2stündigem Stehen neutralisiert und filtriert. Das Filtrat wurde auf seine Agglutinationsfähigkeit auf Blutkörperchen geprüft.

Es wurde benutzt:

2 × der Mageninhalt von Fröschen, die 2 ccm einer 5 %igen Emulsion von Rizinussamen bekommen hatten und nach 24 Stunden gestorben waren.

1 × der Mageninhalt eines Frosches, der 4 ccm Emulsion bekommen hatte.

1 × der Mageninhalt einer Kröte, die 2 ccm eines 2 %igen Rizinusauszugs erhalten hatte.

1 × der Mageninhalt eines Frosches, der 4 ccm eines 2 %igen Rizinusauszugs erhalten hatte und nach 3 Tagen gestorben war.

3 × der Mageninhalt von Fröschen, die 2 ccm eines 2 %igen Rizinusauszugs erhalten hatten und nach 2 Tagen gestorben waren.

In allen diesen Fällen ergab also der Mageninhalt keine Agglutination von Blutkörperchen.

Ich muss mich daher dahin aussprechen, dass der Übergang des subkutan eingespritzten Rizins in den Magen von Fröschen und Kröten durch die Agglutinationsprobe meist nicht nachzuweisen ist, sondern wohl nur bei hohen Dosen erfolgt. Immerhin ist die Möglichkeit der Ausscheidung des Rizins aus dem Organismus durch den Magendarmkanal theoretisch nicht ohne Interesse. Praktisch wird er zur Rettung des vergifteten Organismus wohl kaum in Betracht kommen. Wohl aber erklärt er den schon von Stillmark konstatierten Befund einer ganz ausserordentlich heftigen entzündlichen Alteration der Magendarmschleimhaut warmblütiger Tiere nach intravenöser und nach subkutaner Vergiftung durch Rizin. Dass bei innerlicher Vergiftung unserer Haustiere durch rizinhaltige Futterkuchen der Magendarmkanal besonders stark entzündlich verändert wird, ist danach selbstverständlich. Diese Magendarmentzündung tritt aber auch nach subkutaner Einspritzung nicht zu kleinen Dosen bei warmblütigen Tieren ein. Hier erklärt sie sich am ungezwungendsten durch Ausscheidung mittelst der Drüsen der Magendarmschleimhaut.

Ein kurzer Beitrag zur Kenntnis der Wirkungen des Abrins.

Von

ALFRED SOMMERFELD.

In seiner Arbeit über die vegetabilischen Hämagglutinine im KELLNER-Festschrift-Bande dieser Versuchs-Stationen hat Geh.-Rat KOBERT sich über das Abrin ausführlich ausgesprochen. Die nachstehenden Versuche sollen seine Angaben nur nach zwei Richtungen hin ergänzen, nämlich hinsichtlich der Frage der Einheitlichkeit des Abrins und hinsichtlich der davon bedingten pathologisch-anatomischen Veränderungen.

I. Über das Verhalten des Abrintoxins zum Abrinagglutinin.

Wie beim Rizin hat man auch beim Abrin behauptet, es sei ein Gemisch zweier Substanzen, eines Toxins und eines Agglutinins. Das Toxin soll sich an die Körperzellen, namentlich an die des Zentralnervensystems verankern und das Agglutinin an die Blutkörperchen. Im Reagensglasversuch mit verdünntem Blute spiele das Agglutinin eine Rolle, im lebenden Körper aber lediglich das Toxin.

Ich will versuchen, durch einige einfache Versuche die Unhaltbarkeit dieser landläufigen Anschauung darzutun.

Versuch I vom 28. bis 31. Oktober 1912.

Das Gehirn eines entbluteten Kaninchens von 960 g wird in der Reibschale nach Entfernung der Häute mit 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu einer feinen Emulsion angerieben und diese ohne Druck durch

grobe Leinwand koliert. Die Kolatur wird in einem schmalen, hohen Zylinder zum Absetzen gebracht und die darüberstehende, etwas opaleszente Flüssigkeit abgehoben und durch neue Kochsalzlösung ersetzt und mit dieser geschüttelt. Von der gleichmässigen milchartigen Masse werden in 12 Gläser je 5 ccm gegossen und dazu abwechselnd immer 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung (in Glas I, III, V usw.) und in die andern 6 Gläser je 5 ccm ganz frisch filtrierter 1 %iger Auszug aus gepulverten Abrussamen (30 Jahre alte). Nach 10 Minuten zeigen alle 6 Gläser mit Abrus eine flockige Fällung, die andern 6 noch nicht. Die 6 Fällungen setzen sich rasch zu Boden, während in den andern 6 Gläsern zu dieser Zeit noch kaum etwas von Niederschlag wahrnehmbar ist. Nach langem Stehen bildet sich auch in den 6 Gläsern mit physiologischer Kochsalzlösung ein Niederschlag; er ist aber an Volumen in allen 6 Gläsern kleiner, als in den 6 Abrusgläsern. Werden alle 12 Gläser gleichmässig aufgeschüttelt, so wiederholt sich der ganze Prozess wie das erste Mal, d. h.

1. in den Abrusgläsern rasch Ausfall, in den andern viel, viel langsamer;
2. nach langem Stehen ist der Niederschlag in den Abrusgläsern stets voluminöser als in den andern.

Nun werden alle 6 Abrusgläser zusammengegossen; das Filtrieren gelingt rasch und gibt ein wasserklares Filtrat. Die 6 anderen Gläser, deren Inhalt auch vereinigt wird, gibt ein trübes, sehr langsam durchgehendes Filtrat.

Der Abrushirnzellenniederschlag wird auf dem Filter gewaschen und zwar über 24 Stunden lang mit immer neuen Quantitäten physiologischer Kochsalzlösung, bis das Filtrat, mit einigen Tropfen Blut versetzt, keine Spur von Agglutination mehr gibt. Nun wird der Zellbrei mit wenigen Tropfen verdünnter Salzsäure verrührt und von neuem auf dem Filter mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Von dem jetzt erfolgenden sauren Filtrat, welches 20 ccm beträgt, werden 5 ccm nach genauer Neutralisierung mit 5 ccm 2 %iger Menschenblutkochsalzlösung versetzt. Es erfolgt fast momentan totale Agglutination.

Von den übrigen 15 ccm des Filtrates werden 10 ccm mit einem Überschuss von Alkohol gefällt und der minimale Niederschlag in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und zu einem Blutversuch benutzt. Er ergibt Agglutination von Kaninchenblut und zwar rasch und stark.

Dieser Versuch zeigt:

1. dass Gehirnzellen vom Kaninchen das Abrin verankern, so dass es durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung nicht zu extrahieren ist;
2. dass diese Zellen mit Abrin sich physikalisch anders verhalten, als die Zellen ohne Abrin, indem sie sich
   a) schneller ballen und niederfallen,
   b) ein grösseres Volumen haben als die anderen,
   c) viel besser abfiltrieren lassen und ein klareres Filtrat geben;

3. dass das aus diesen Gehirnzellen wieder abgeschiedene Abrin, welches nach gewöhnlicher Anschauung Toxin sein sollte, als Agglutinin, und zwar auf Menschenblut und Kaninchenblut wirkt. Alles dieses lässt sich nur erklären, wenn man annimmt, dass Toxin und Agglutinin im Abrin zu einer einheitlichen Substanz verbunden, ja dass sie identisch sind;
4. zeigt unser Versuch, der mit 30 Jahre alten Samen angestellt worden war, dass drei Jahrzehnte nicht imstande sind, Abrussamen ganz unwirksam zu machen.

Versuch II.

Gehirnzellen vom Kaninchen.

Glas I. Erste Kontrolle.

5 ccm Gehirnzellen + 5 ccm NaCl.

Glas II.

5 ccm Gehirnzellen + 5 ccm 0.2 %iger Abrusauszug.

Glas III.

5 ccm Gehirnzellen + 2 ccm NaCl + 3 ccm 0.2 %iger Abrusauszug.

Glas IV.

5 ccm Gehirnzellen + 4 ccm NaCl + 1 ccm 0.2 %iger Abrusauszug.

Glas V. Zweite Kontrolle.

Gleich nach dem Zusatz von 5 ccm Abrus = 10 mg Same, sieht man nach Umschütteln beim Vergleich mit dem Kontrollglas, dass eine Agglutination mit Bildung scharf umschriebener Klümpchen, die in einer klaren Flüssigkeit schwimmen, eingetreten ist, während in dem Kontrollglas eine mehr homogene Masse war. Lässt man 10 Minuten absetzen, so hat sich im Kontrollglas noch kein Bodensatz gebildet, während in dem Glas mit 10 mg Gift ein 2 ccm hoher Bodensatz agglutinierter Gehirnzellen entstanden ist. Das Glas mit 6 mg setzt langsamer ab, aber immer noch viel schneller als die Kontrolle. Das Glas mit 2 mg zeigt erst nach einer Stunde eine geringe Verschiedenheit von der Kontrolle.

Der Versuch bis hierher zeigt also, dass die Gehirnzellen das Abrin, wenigstens in 2 Gläschen, vermutlich verankert haben und dabei agglutiniert sind.

Es wird nun das Glas, welches den Zusatz von 10 mg bekommen hat, filtriert, der Rückstand mit NaCl gewaschen, bis zum Schwinden der Abrusreaktion auf Blut, dann die Zellen mit 5 ccm NaCl in ein Reagensglas gespült und mit 2 Tropfen verdünnter HCl versetzt, um das verankerte Abrin frei zu machen. Nachdem die HCl vom Abend bis früh eingewirkt hat, wird filtriert und vom Filtrat die Hälfte, entsprechend 2.5 ccm Abrusauszug = 5 mg Same, neutralisiert und nun zu 5 ccm 2 %igem Kaninchenblut gesetzt und auf 10 ccm aufgefüllt. Zur Kontrolle dienen zwei Portionen von je 5 ccm 2 %igem Kaninchenblut mit je 5 ccm NaCl versetzt. Nach 1stündigem Stehen ist in dem Gläschen mit dem Auszug aus dem Gehirnagglutinat totale, feste Agglutination eingetreten.

Damit ist bewiesen,

1. dass das Abrin sich mit Gehirnzellen auch noch im Reagensglas verankert und die Zellen resp. Zelltrümmer zu grösseren, mit blossem Auge sichtbaren Klumpen umwandelt, wie LAU dies zuerst unter Prof. KOBERT angegeben hat;
2. dass sich in den Gehirnzellen nicht etwa nur ein Toxin, sondern daneben auch noch — oder richtiger gleichzeitig auch noch — das damit wohl identische Agglutinin verankert hatte.

Versuch III vom 1. bis 4. November 1912.

Gehirn eines entbluteten Kaninchens.

Der Zellbrei ist mit Kochsalz, welches zu $^1/_4$ seines Volumens mit 10fach verdünntem Formaldehydum solutum versetzt war, 3 Tage aufgehoben. Vor dem Gebrauch wird das Formalingemisch abgehoben und durch 0.9 %ige Kochsalzlösung ersetzt.

Der Verlauf des Versuches ist genau wie beim vorigen und vorvorigen.

Ergebnis: Also ist Formalin in dieser Konzentration nicht hinderlich; vielmehr lassen sich Gehirnzellen auch nach der Formalinanhärtung noch durch Abrin agglutinieren. Ferner lässt sich das Abrin aus den ausgewaschenen Zellen durch Salzsäure wieder freimachen, und wirkt dann auf Blutkörperchen (in diesem Fall waren es Katzenblutkörperchen) agglutinierend.

Doppelversuch IV vom 6. bis 12. November 1912.

Formalin-Hirnzellen wie beim vorigen Versuch; daneben weisse Blutkörperchen aus der Thymus eines Kalbes.

Von beiden Zellarten werden je 6 Gläschen aufgesetzt und zwar immer drei mit Abrin, d. h. 1 %igem Auszug aus Samen und 3 nur mit physiologischer Kochsalzlösung. Auf 5 ccm Zellgemisch je 5 ccm Abrusauszug resp. Kochsalz. Nach 3tägigem Stehen wird filtriert und energisch immer wieder gewaschen, bis die Filtrate nichts mehr von Abrin enthalten. Nun wird mit Salzsäure (je 1 Tropfen auf die vereinigten 3 Gläschen mit Gehirnzellen und 1 Tropfen auf die mit Leukocyten) versetzt, sauer filtriert, die Filtrate neutralisiert und rasch wieder filtriert. Nun Zusatz von Menschenblut (von einem Selbstmörder) je 3 ccm zu 3 ccm Filtrat. Nach 2 Stunden totale Agglutination sowohl mit der aus Gehirnzellen als mit der aus Leukocyten gewonnenen Flüssigkeit, während die Kontrollgläschen keine Agglutination geben.

Ergebnis: Wie an Gehirnzellen (mit oder ohne Formalinbehandlung), so lagert sich auch an Leukocyten das Abrin an und kann selbst durch Waschen mit viel Kochsalz

daraus nicht extrahiert werden. Sobald man aber jetzt mit Salzsäure die Zellen behandelt, lässt sich Abrin abspalten und an Blutkörperchen (hier vom Menschen) verankern.

Versuch V vom 1. bis 6. November 1912.

Leberzellen vom Kaninchen.

5 ccm Leberzellenbrei vom Kaninchen, blutfrei gewaschen, werden mit 2 ccm Abrin = 20 mg Substanz (Merck) versetzt und nach 12stündiger Einwirkung auf dem Filter immer wieder mit Kochsalzlösung gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr auf Blutkörperchen agglutinierend wirkt. Dann wird mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung + 2 Tropfen verdünnter Salzsäure verrieben, ausgezogen und dieser Auszug neutralisiert und rasch filtriert. Er agglutiniert 5 ccm 2 %iges Menschenblutkörperchengemisch binnen zwei Stunden total.

Versuch VI. Analoger Versuch vom 3. bis 6. November.

Menschlicher Eiter.

5 ccm menschlicher Eiter aus einem tuberkulosen Abszess wurden gewaschen, um die weissen Blutkörperchen zu isolieren, die dann 2 Tage unter verdünntem Formalin + physiologischer Kochsalzlösung standen, und die dann mit 20 mg Abrin (Merck) versetzt wurden. Nach 12 Stunden auf dem Filter energisch gewaschen, bis keine Agglutination mehr erfolgte; nun mit Salzsäure versetzt, der Auszug neutralisiert, rasch filtriert und gegen 5 ccm 2 %ige Kaninchenblutkörperchensuspension geprüft. Nach 5 Stunden totale Agglutination.

Diese Versuche, welche mehrfach variiert wurden, und doch immer im gleichen Sinne ausfielen, zwingen zu dem Schluss, dass in dem Abrin ein gesondertes Abrintoxin und ein Abrinagglutinin nicht angenommen werden können, sondern dass diese beiden Substanzen identisch sind. Auch für das Rizintoxin und Rizinagglutinin ist dies durch die vorstehenden Untersuchungen von Reid jetzt erwiesen. Was die „Verankerung" des Abrins in oder genauer an den Zellen verschiedener Art, d. h. an den Hirnzellen, Leberzellen, Thymuszellen, Eiterkörperchen anlangt, so braucht dies lediglich eine Adsorption im Sinne der physikalischen Chemie zu sein. Diese würde vollständig genügen, um alle beobachteten Erscheinungen, d. h. das Nichtgelöstwerden durch Kochsalzlösung, aber das Wiederfreiwerden durch verdünnte Säure, zu erklären. Für diese rein physikalisch-chemische Auffassung spricht auch die Tatsache, dass Formalineinwirkung auf die Zellen des Gehirns und des Eiters die Erscheinungen nicht änderte.

Dass bei formalisierten Hirnzellen keine echte Verankerung am intakten Protoplasma vor sich gehen kann, ist wohl selbstverständlich.

II. Über die sogen. hydropische Degeneration durch Abrin.

SCHMORL[1]) erkannte die sogen. hydropische Degeneration der Muskelfasern des Herzens gewisser Tierarten als typisch für Abrinvergiftung. Da die Rizinvergiftung keine solche typische hydropische Degeneration macht, könnte dieser Befund vielleicht gerichtlich-medizinisch mitbenutzt werden, um auf Abrinvergiftung zu schliessen, falls Haustiere an Futterkuchenvergiftung unbekannter Art zugrunde gegangen sind. Bei der Wichtigkeit der Sache für die Haustierpathologie schien es mir der Mühe wert, an einer Reihe von pflanzenfressenden Tieren Vergiftungen durch Abrussamenauszug bezw. durch Abrin herbeizuführen und die wichtigsten Organe zu untersuchen. Natürlich musste ich die Vergiftungen so gestalten, dass einige Tiere ganz akut, andere etwas langsamer verendeten.

Ich gebe die Versuche in der Reihenfolge, wie sie angestellt worden sind, wieder.

1. Mittelgrosses Kaninchen von 1900 g.

23. Juni. 1 ccm eines 2 %igen Auszuges aus enthülsten Paternosererbsen subkutan (= 20 mg Same, d. h. 10.05 mg Same pro Kilogramm Tier).

24. Juni. Das Tier ist noch munter; Harn frei von Eiweiss. Es werden 5 ccm desselben Auszuges gegeben (= 100 mg Same, d. h. 50.25 mg Same pro Kilogramm Tier).

Das Tier ist nach 6 Stunden tot. Im ganzen erhielt das Tier das Abrin aus 60.3 mg Same.

Sektion: In Brust- und Bauchhöhle keine Ergüsse. Lungen und Herz makroskopisch unverändert. Die Wand des Coecums ist stark aufgetrieben und beim Durchschneiden stark mit Flüssigkeit durchtränkt. Die Schleimhaut des Magens und Dünndarms ist sehr blutreich, die Placques etwas geschwollen doch nirgends Blutaustritte oder Geschwüre.

Am Darminhalt nichts Auffallendes; die Dickdarmschleimhaut ist blass und glatt.

Die Wand des ganzen Coecums ist mit Flüssigkeit durchtränkt, die Schleimhaut ist ganz blass. Der Inhalt wie üblich. Wurmfortsatz unverändert.

Die mesenterialen Lymphdrüsen sind vergrössert und sehr blutreich. Leber voller Parasiten (Psorospermien). Nieren makroskopisch unverändert.

---

[1]) Jahresbericht der Gesellschaft für Natur- und Heilkunde zu Dresden. Jahrg. 1899—1900.

Mikroskopischer Befund.

Niere: Glomeruli blutreich, keine Exsudate in der Bowmannschen Kapsel. Epithel der Tubuli contorti unverändert, Kernfärbung überall deutlich, keine Zylinder im Lumen. Nierenpapille normal. Im interstitiellen Gewebe finden sich Blutaustritte, die die Harnkanälchen auseinanderdrängen. Teils liegen die Blutungen anschliessend an mittlere Arterien, teils frei im Interstitium; die einzelnen Blutungen sind nicht gross.

Schnitt durch den Placque an der Bowmannschen Klappe: Schleimhaut und Epithel unverändert, Lymphfollikel sehr zahlreich. Mehrkernige Leukocyten nur wenig vorhanden. Vereinzelte Zellen in der Mitte der Follikel zeigen Kernzerfall, sonst nichts auffallendes. In der Schleimhaut einige eingekapselte Nester von Psorospermien.

Schnitt durch das ödematöse Coecum: Epithel unverändert, ebenso die Muskularis; die Submukosa ist sehr verbreitert, zellarm und das Bindegewebenetz durch Flüssigkeit auseinandergezogen. Die Gefässe sind wenig gefüllt. Es fällt auf, dass in Arterien und Venen die roten Blutkörperchen nur mangelhaft gefärbt sind und undeutliche Struktur aufweisen. Keine Thrombose, kein Austritt von roten Blutkörperchen ins ödematöse Gewebe.

Mesenteriale Lymphdrüsen: Die Lymphfollikel sind blutreich und enthalten sehr viele mehrkernige Leukocyten. Im Bereiche der Ansammlungen der roten Blutkörperchen sieht man reichlich Leukocyten mit zerfallenen Kernen und frei im Gewebe liegende Kerntrümmer. Die Lymphsinus sind stark erweitert; man findet in ihnen kleine einkernige Zellen, reichlich mehrkernige Zellen, die vielfach Zerfallerscheinungen aufweisen, intensiv gefärbte freiliegende Kerntrümmer, rote Blutkörperchen und sehr reichlich grosse Zellen mit hellem Protoplasma und grossen hellen ovalen bis rundlichen Kernen. Im Protoplasma dieser Zellen, die anscheinend abgestossene Endothelien der Lymphsinus vorstellen, sieht man Haufen zusammengebackter roter Blutkörperchen, die das Protoplasma dann stark auftreiben; öfters enthält das Protoplasma eine amorphe, gelbbraune körnige Masse (wohl Hämosiderin).

Im ganzen macht das Bild bei der hier vorliegenden $1\,^1/_2$tägigen Vergiftung eines Kaninchens den Eindruck einer primären Schädigung des lymphatischen Apparates. Ferner finden sich in der Niere Blutaustritte. Grobe sonstige Veränderungen fehlen.

II. Weisses Kaninchen von 1030 g.

1. Juli. Subkutan 2 ccm eines 2 %igen Abruserbsenauszuges (also 40 mg Same, d. h. 38.8 mg Same pro kg Tier).

2. Juli. Nach vollständigem Wohlbefinden plötzliche Krämpfe. Nach 30 Min. tot.

Sektion: Im Netz einige kleine Blutaustritte. Starke Schwellung der sehr blutreichen Mesenterialdrüsen, leichte Hyperämie des Dünndarms, sonst makroskopisch nichts Auffallendes.

Mikroskopischer Befund.

Niere: Glomeruli unverändert, frei von Exsudaten; Tubuli contorti ohne Zylinder, Epithel gut erhalten; in den Sammelröhren einige kleine Zylinder; in Rinde und Mark diffus zerstreut zahlreiche interstitielle Blutungen.

Herz: stellenweise sieht man in den Herzmuskelfasern Pyknose und Kernzerfall; die Querstreifung ist streckenweise mangelhaft; das Protoplasma körnig und die Muskelfaser dann, allerdings nur unbedeutend, verbreitert. Einige kleine kapillare Blutungen zwischen den Muskelfasern.

Mesenteriale Lymphdrüsen: Die Lymphfollikel sind ziemlich reich an mehrkernigen Zellen; stellenweise finden sich in ihnen Anhäufungen roter Blutkörperchen, die den Eindruck freier Blutungen machen. Im Zentrum einiger Follikel finden sich Herde, die aus einer fast homogenen scholligen, graurötlichen Grundsubstanz bestehen, in die zahlreich intensiv gefärbte Kerntrümmer eingelagert sind (totale Nekrose). Die Lymphsinus zeigen ein ganz ähnliches Bild wie Tier I; sie sind stark erweitert, enthalten reichlich mehrkernige Zellen, die z. T. Kernzerfallerscheinungen zeigen. Ähnlich verhalten sich auch die grossen runden Zellen mit ovalen hellen Kernen, deren Protoplasma teils schollige Massen, teils Klumpen roter Blutkörperchen, teils Kerntrümmer enthält. Im ganzen ein dem Tier I ähnlicher Befund.

Milz: sehr blutreich. In den Follikeln selbst sind an den Zellen so gut wie keine Veränderungen zu sehen. In den Bluträumen liegen aber ziemlich reichlich Leukocyten mit Kernzerfall, grosse Zellen mit mangelhaft gefärbtem Kern und freie Kerntrümmer.

Die grossen Fresszellen der mesenterialen Lymphdrüsen sind in der Milz nicht mit Sicherheit zu finden.

Knochenmark: Die roten Blutkörperchen zeigen keine Veränderungen, ebenso wenig die Knochenmarkriesenzellen. Von den weissen Blutkörperchen zeigen eine ganze Reihe Zerfallerscheinungen der Kerne und zwar sind beteiligt sowohl die mehrkernigen, als auch die grossen einkernigen Leukocyten. Fresszellen mit roten Blutkörperchen oder Trümmern solcher sind nicht zu sehen. Im ganzen gleicht das Bild sehr dem der Milz.

Nach 24stündiger Vergiftung zeigten sich beim Kaninchen wie im vorigen Versuche Blutaustritte in das Nierengewebe sowie Schädigung der lymphatischen Apparate bis zur Nekrose und zum Kernzerfall. Ebenso sind die Herzmuskelfasern geschädigt, zeigen aber keine hydropische Degeneration.

III. Meerschweinchen von 250 g.

4. Juli. 1 ccm eines 2 %igen Abrusauszuges subkutan (also 20 mg Same, d. h. 80 mg Same pro kg Tier).

Das Tier ist in der Nacht zum 5. Juli gestorben.

Sektion: Die serösen Höhlen zeigen keine Ergüsse. Herz und Lunge sind makroskopisch unverändert. Mesenterialdrüsen nicht geschwollen. Darminhalt normal; Darmschleimhaut glatt. Harn eiweissreich.

Mikroskopischer Befund.

Herz und Leber ohne Besonderheiten.

Niere: Glomeruli sind normal. In den Nierenkanälchen wenig kleine Zylinder. Keine Exsudate. Sonst nichts besonderes.

Milz: Gehalt an roten Blutkörperchen gering. In den Follikeln weisen einzelne Zellen Zerfallerscheinungen auf, doch sind solche degenerierte Leukocyten nur wenig vorhanden.

Bei eintägiger Vergiftung sind die Befunde am Meerschweinchen gering. Sie bestehen in mässigem Leukocytenzerfall und vereinzelten Zylindern in den Harnkanälchen.

IV. Weisses Kaninchen von 1800 g.

5. Juli. 1 ccm eines 2 %igen Abrusauszuges subkutan (= 20 mg Same, d. h. 11 mg Same pro kg Tier).

6. Juli. Mittags verendet.

Sektion: Brusthöhle zeigt nichts Besonderes. In den Herzhöhlen ist flüssiges Blut. In der Bauchhöhle findet sich ein freies hämorrhagisches Exsudat; Bauchfell überall glatt, keine Fibrinbelege. Unter ihm, und zwar besonders reichlich im grossen Netz, aber auch viel im Mesenterium des Dünndarms und Dickdarms finden sich zahllose kleine Blutaustritte von Stecknadelkopf- bis Erbsengrösse. Das Blut in der freien Bauchhöhle entstammt anscheinend den Blutungen im grossen Netz. Die Blutungen folgen dem Verlauf der Gefässe. Die Schleimhaut des Magens stark gerötet; der Inhalt zeigt streckenweise aussenanliegend einen dünnen Blutbelag. Im ganzen Dünndarm, und zwar von oben nach unten an Menge abnehmend, finden sich zahllose stippchenförmige Blutaustritte in der Schleimhaut; eine Reihe etwas grösserer, flacher Blutungen schimmert durch. Der Inhalt ist streckenweise blutig gefärbt; das Blut scheint grösstenteils aus den sehr stark geschwollenen und blutreichen Peyerschen Placques ausgetreten zu sein. Dickdarm ohne Besonderheiten; Schleimhaut blass und glatt; auch am Coecum nichts Auffallendes; nur das lymphatische Gewebe des Wurmfortsatzes und die grossen Placques an der Einmündung des Dünndarms sind stark gerötet und geschwollen. Mesenteriale Lymphdrüsen sind stark geschwollen und sehr blutreich. Nieren sind makroskopisch unverändert. Die Blase ist leer; der letzte Inhalt ist stark bluthaltig, im Sediment zahlreiche kurze, granulierte, bräunlich gefärbte Zylinder, Leukocyten und nicht sehr zahlreich rote Blutkörperchen.

Mikroskopischer Befund.

Leber: Die Leberkapillaren sind gleichmässig stark gefüllt, kein Unterschied im Blutgehalt von Zentrum und Peripherie der Läppchen. Stellenweise finden sich kleine Inseln von etwas vergrösserten sehr hellen Leberzellen mit mangelhafter, aber nie ganz fehlender Kernfärbung. Gallensystem ist unverändert. In den Kapillaren auffallend viele eosinophile Leukocyten. In einigen Kapillaren sieht man Leukocyten mit zerfallenden Kernen und einige freie Kerntrümmer.

Herz ohne besondere Veränderung. Kernfärbung überall gut erhalten, ebenso die Struktur des Protoplasmas.

Niere: An den Epithelien sind keine Schädigungen zu sehen. Glomeruli unverändert; keine Exsudate in der Bowmannschen Kapsel. In den Querschnitten einiger Contorti und in den Sammelröhren finden sich fein granulierte Zylinder, die etwas die Eosinfarbe angenommen haben und den Eindruck von hämoglobinhaltigen Zylindern machen.

Schnitt durch das Netz: Die zahlreichen kleinen Blutungen, die das lockere Bindegewebe auseinanderdrängen und auch ziemlich reichliche mehrkernige Zellen enthalten, zeigen mikroskopisch keine Besonderheiten; im nicht durchbluteten Netzgewebe liegen viele eosinophile Leukocyten.

Dünndarm: Die zahlreichen kleinen Blutungen liegen teils in der Mukosa, teils in der Submukosa frei im Gewebe, teilweise auch im Inneren von Lymphfollikeln. Die ausgetretenen Blutkörperchen bieten nach Form und Lagerung keine Besonderheiten. Die Schleimhaut und Muskularis des Darmes ist unverändert.

Schnitt durch den grossen Placque am Ende des Dünndarms: Die grossen Lymphfollikel sind sehr blutreich; man sieht den Durchtritt der roten Blutkörperchen an die Oberfläche durch das unveränderte Epithel. Die Zellen des lymphatischen Apparates zeigen nichts Auffallendes.

Milz: sehr blutreich; in den Follikeln weniger zerfallene weisse Blutkörperchen, als in den Bluträumen, wo sehr reichlich Kernzerfall und Kerntrümmer zu sehen sind. In den roten Blutkörperchen sind keine Veränderungen wahrzunehmen; Fresszellen, mit roten Blutkörperchen geladen, sind nicht vorhanden.

Mesenterialdrüsen: Dasselbe Bild wie bei den früheren Tieren; sehr reichlich in den erweiterten Lymphsinus die grossen runden Zellen mit hellem Kern, deren Protoplasma mit roten Blutkörperchen vollgestopft ist; einige Zellen enthalten auch ein bräunliches Pigment, einzelne auch Kerntrümmer. Kernzerfall nicht ganz so häufig wie bei den früheren Tieren.

In diesem Falle waren die schon makroskopisch wahrnehmbaren Blutaustritte sehr beträchtlich; trotzdem waren Herzveränderungen nicht zu finden. Die Alteration der lymphatischen Gebilde dagegen war beträchtlich.

V. Grosses Kaninchen von 1800 g.

19. Juli, mittags 11^{20} erhält das Tier subkutan 4 ccm eines Abrusauszuges, der in 1 ccm 2 mg Samen enthält, im ganzen also 8 mg Same.

20. Juli, vormittags 10 Uhr. Das Tier befindet sich gut. Im Harn etwas Eiweiss vorhanden.

22. Juli, subkutan werden 8 mg desselben Abrusauszuges eingespritzt.

23. Juli, morgens gestorben.

Im ganzen erhielt das Tier den Auszug aus 16 mg Same, also 8,8 mg Same pro kg Tier.

Sektion: In Brust- und Bauchhöhle keine Ergüsse. Lunge und Herz makroskopisch unverändert, ebenso Nieren und Milz. Magen und Darm ohne Besonderheiten. Darminhalt normal. Im Harn reichlich Eiweiss.

Mikroskopisch finden sich im Harn reichlich Leukocyten, Zylinder und Epithelien.

Mikroskopischer Befund der Organe.

Herz: Die Kerne der Herzmuskelfasern zeigen keine Veränderungen. Die Muskelfasern selbst sind überall von entsprechender Breite; die Querstreifung ist deutlich. An einigen Stellen finden sich kapillare Blutungen zwischen den Fasern.

Leber: zeigt auf dem mikroskopischen Bilde keinerlei Veränderungen.

Niere: Die Glomeruli sind nicht verändert. In einigen Tubuli contorti sieht man Kernzerfall und schollige amorphe Massen im Lumen. Die Schleife ist unverändert. In den geraden Kanälchen liegen ganz vereinzelte Zylinder.

Milz und ebenfalls die mesenterialen Lymphdrüsen zeigen dasselbe Bild wie bei den früheren Tieren.

VI. Kaninchen von 1140 g.

Dem Tiere wurden subkutan 10 ccm eines Abrusauszuges eingespritzt, welcher in 1 ccm 10 mg Same enthält, also im ganzen 100 mg Same.

Das Tier verendete nach 15 Stunden.

Sektion: Bei Eröffnung der Bauchhöhle zeigte sich darin ein reicher Erguss einer nicht blutiger Flüssigkeit. Einige punktförmige Blutaustritte finden sich auf dem Überzug des Blinddarmes. Die Schleimhaut vom Magen und Darm ist unverändert, der Inhalt vollkommen normal. Herz, Leber und Nieren sind makroskopisch unverändert. Die Mesenterialdrüsen sind nicht geschwollen. Im Harn ist kein Blut vorhanden; mikroskopisch werden vereinzelte Zylinder gefunden.

Mikroskopischer Befund.

Die Niere wurde in diesem Falle nicht frisch, sondern gehärtet untersucht, und zwar Stücke beider Nieren im Längs- und Querschnitt. Die Glomeruli zeigen keine Änderung an Füllung und Struktur, auch sind die Kapseln normal. Die Blutfüllung der Gefässe der ganzen Niere ist ebenfalls nicht von der Norm abweichend, nur sind an einzelnen Stellen der Rinde einige Blutaustritte ins Gewebe und in die Harnkanälchen erfolgt. Von den Kanälchen sind am auffallendsten verändert die Sammelröhrchen nach der Papille zu, indem sie zum grossen Teil durch zylinderartige Massen ausgefüllt sind. Vereinzelt sind die Zylinder auch in der Nierenrinde nachweisbar. Die Zylinder füllen das Lumen teils ganz aus, teils sind sie beim Härten geschrumpft. Sie sind ihrer Struktur nach meist homogen und scheinen aus fibrinartigen Massen zu bestehen; nur zum Teil sind sie hyalin.

Bluteinschlüsse in die Zylinder sind nicht zu sehen. Dazu stimmt, dass auch der in der Blase vorhandene Harn blutfrei aber zylinderhaltig befunden wurde.

Die mikroskopische Untersuchung der Lymphdrüsen des Mesenteriums, die der Leber, der Darmschleimhaut, sowie auch die des Herzens, ergaben keinerlei gröbere Veränderungen.

In diesem Falle, wo die Vergiftung nur 15 Stunden gedauert hatte, waren die nach längerer Dauer stets vorhandenen schweren Schädigungen des lymphatischen Apparates noch nicht wahrnehmbar. Wohl aber war es zu vereinzelten Blutaustritten unter dem Peritoneum, zu einem serösen Erguss in die Bauchhöhle und zu starker Zylinderbildung in der Niere gekommen.

Fasse ich das Ergebnis des zweiten Kapitels kurz zusammen, so kann es nur folgendermassen formuliert werden: Die von Schmorl an Fleischfressern gefundene sogen. hydropische Degeneration der Herzmuskelfasern ist an Kaninchen und Meerschweinchen weder bei grosser noch bei kleiner, d. h. eben nur letaler Dose nachweisbar. Sie kann daher bei der Vergiftung von Haustieren durch Futterkuchen nicht benutzt werden, um auf Abrinbeimengung zu schliessen.

Die makroskopischen Befunde der Abrusvergiftung bei Kaninchen und Meerschweinchen nach subkutaner Einspritzung sind denen bei Rizinus recht ähnlich, so dass man beide Vergiftungen bei diesen Tieren und vermutlich auch bei andern Pflanzenfressern durch den makroskopischen Befund oft nicht zu unterscheiden imstande sein dürfte. Bei beiden Vergiftungen pflegt es zu Schwellung der Lymphknoten in der Bauchhöhle und zu kleinen, aber oft sehr zahlreichen Blutaustritten, besonders im grossen Netz, zu kommen, auch wenn das Gift mit Umgehung des Darmkanales injiziert worden war.

Die mikroskopische Untersuchung der abdominellen Organe der Kaninchen und Meerschweinchen, die durch Abrussamenauszug von mir vergiftet worden waren, ergab degenerative Alteration der Lymphknoten und der follikulären Apparate des Darmkanales, die primärer Natur zu sein scheint. — In der Leber konnten besondere Veränderungen nicht gefunden werden. — In der Niere kommen Blutaustritte ins Gewebe und Zylinder in einzelnen Abschnitten des Kanalsystems vor. Meist sind die Zylinder homogen.

Im grossen und ganzen erinnert das Bild sowohl der Rizinvergiftung als das der Abrinvergiftung an das durch bakterielle Toxine, wie dieses auch immer schon behauptet worden ist.

Über die Giftstoffe der Samen von Jatropha Curcas.

Von

JOHANNES FELKE.

Die nachstehende Arbeit gehört auch mit in die Reihe der Untersuchungen, welche Rizinus und verwandte Samen betreffen. Da gerade das letzte Jahr neue Vergiftungen durch Curcassamen gebracht hat, scheint mir eine ausführliche Darstellung der Bestandteile und Wirkungen dieser Droge durchaus zeitgemäss, namentlich da in diesen Versuchs-Stationen niemals noch davon die Rede gewesen ist.

I. Einige orientierende Vorbemerkungen über Curcas.

1. Botanisches.[1])

Die Jatropheen, eine Gattung der grossen Familie der Euphorbiaceen, sind in etwa 70 Arten über die warmen Gebiete beider Hemisphären, vorzugsweise über Amerika verbreitet. Ihr Name leitet sich ab von *ἰάομαι*, ich heile, und *τροφή*, Nahrung, denn viele Pflanzen dieser Gattung dienen arzneilichen Zwecken, während andere wichtige Nahrungsmittel liefern. Zur ersten Gruppe gehört Jatropha Curcas *L.*, deren medizinische An-

---

[1]) Unter Benutzung von: A. Engler und K. Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, III. Teil, 5. Abt., S. 74 f. Geissler-Möller, Realenzyklopädie der gesamten Pharmazie (Hartwich). I. Aufl. A. Siegel, Die Giftstoffe zweier Euphorbiaceen, Diss. Dorpat 1893.

wendung sich jetzt allerdings nur auf ihre Heimat beschränkt; zur zweiten ist zu zählen Manihot utilissima[1]), in Brasilien heimisch, die die Cassavastärke oder Tapioka liefert.

Die Jatropheen sind Stauden, Sträucher oder Bäume, bisweilen mit Stacheln versehen. Die Blätter sind alternierend, gestielt, ungeteilt oder (bisweilen an derselben Pflanze) fingerförmig, 3—5-lappig oder -teilig, die Abschnitte ganz oder buchtig gezähnt. Die monöcischen Blüten stehen in dichasial gebauten Rispen, die weiblichen an den ersten Auszweigungen, die männlichen an den späteren. Bei Jatropha Curcas besitzen die Blüten beiderlei Geschlechts Kelch und Krone, die am Grunde miteinander verklebt, daher anscheinend gamopetal sind. Der Kelch ist tief fünfspaltig, und die urnenförmige Krone ist fünflappig. Mit den weissen Kronenblättern alternieren fünf freie Drüsen, die Basis der männlichen Blütenteile umgebend. Die 10 Staubgefässe stehen in zwei Kreisen zu fünf, die inneren sind verwachsen, die äusseren epipetal. In den männlichen Blüten ist kein Rudiment des Fruchtknotens vorhanden. Die weiblichen Blüten, die im übrigen den männlichen analog gebaut sind, tragen einen oberständigen, länglichen, glatten, dreifächrigen Fruchtknoten; der Griffel ist am Grunde verwachsen und in zwei zweispaltige Äste geteilt. Im übrigen trägt die weibliche Blüte noch 8—10 unfruchtbare Staubfäden.

Die Frucht hat die Grösse einer Walnuss, ist gestielt, dreifächrig aufspringend, und enthält drei nierenförmige, aber vom „Hilus“ aus abgeplattete Samen mit krustiger Testa und fleischigem Nährgewebe. Sie sind etwa 2 cm lang, die Schale ist sehr hart und spröde, die Oberfläche schwarz, mit einem Stich ins Braune, matt, wie mit pulverförmigem Pigment bestäubt. Auf der eingezogenen Seite, dem „Hilus“ im Vergleich mit einer Niere, befindet sich der Nabelstreifen mit seiner helleren Farbe, und an einem Ende eine runde Narbe.

Die beiden fleischigen, öligen Cotyledonen sind von einer, stellenweise mit der Schale eng verklebten, zarten, durchscheinenden Membran umgeben. Der Embryo ist gut ausgebildet, gross, mit anatropen Würzelchen und grossen, weissen, durchscheinenden Keimblättchen versehen und liegt eingeschlossen zwischen den Cotyledonen.

---

[1]) MITLACHER, Die offiziellen Pflanzen und Drogen, S. 16.

2. Über Vorkommen, Anwendung und Verwertung der Jatropha Curcas.

Jatropha Curcas ist über die ganzen Tropen verbreitet. Als ihre Heimat wird übereinstimmend von allen Autoren[1]) Westindien und Neugranada bezeichnet. Ob sie nicht aber auch in Ostindien heimisch ist, scheint fraglich zu sein, jedenfalls wird von dort ihre uralte Anwendung in der Heilkunde berichtet. W. Dymock[2]) führt an, die Hindus gebrauchten sie, offenbar die Samen, als Abführmittel, aber wegen unsicherer Wirkung schätzten sie sie jetzt nicht sehr. Beliebter sei die äusserliche Anwendung des Öles bei Rheumatismus, Herpes, Scabies, ferner bei Rissen und Wunden. Ein Absud der Blätter soll die Milchsekretion steigern; und eine zweckmässige Anwendung finde der aus dem angeschnittenen Stamm fliessende Milchsaft: er werde nämlich auf Wunden gestrichen, da er eintrocknend eine hellrotbraune Haut hinterlässt, wie Kollodium. Neben dieser Eigenschaft muss der Milchsaft auch wohl noch gerinnungsfördernde Eigenschaften haben, denn Dymock berichtet von einem Dr. Evers, er habe eine Drachme mit bestem Erfolg, in ein variköses Aneurysma injiziert; die Blutung sei danach rasch zum Stillstand gekommen.

In Goa verwendet man die Wurzelrinde äusserlich bei Rheuma, in Concan wird sie mit Asa foetida verrieben und mit Buttermilch gegen Dyspepsie und Diarrhöe gegeben. Eine weitere Anwendung des Milchsaftes als Stypticum dürfte der Gebrauch sein, blutendes Zahnfleisch mit Curcaszweigen wie mit einer Zahnbürste zu reiben.

Demnach ist in allen Teilen von Jatropha Curcas ein Milchsaft vorhanden, dem man wohl reizende Eigenschaften zuschreiben darf.[3]) Diese Tatsache ist nicht weiter verwunderlich, da ja gerade die Euphorbiaceen durch einen Milchsaft charakterisiert sind, dessen reizende Fähigkeit in einigen, z. B. der Hippomane Mancinella, so stark sind, dass sogar Regentropfen, die über die Blätter herabrollen, eine Pusteleruption auf der Haut und erst recht eine Konjunktivitis erzeugen können sollen

---

[1]) U. a. The national Dispensatory by Stillé and Maisch 1879, p. 483.

[2]) W. Dymock, The vegetable Materia medica of Western India 1885, p. 694.

[3]) Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen, zweite Auflage.

(Orfila und Olivier d'Angers). Der Ruf allerdings, in den der Manzanillenbaum durch Meyerbeers Oper „Die Afrikanerin" gekommen ist, nämlich, dass einer, der unter ihm einschläft, nicht mehr erwacht, ist durchaus unberechtigt.

Über weitere Eigenschaften des Milchsaftes von Jatropha Curcas ist nichts zu erfahren: Untersuchungen sind auch nur an Ort und Stelle möglich. Nur eine Notiz ist noch merkwürdig.[1]) Jaillet erklärt nämlich die manchmal vorkommende Giftigkeit des Vanilleeises dadurch, dass die verwandte Vanille an Stämmen von Jatropha Curcas gezogen wäre und aus deren giftigen Milchsaft Gift aufgenommen habe. Dieser Erklärung darf man wohl skeptisch gegenüberstehen, sicher ist aber, dass Jatropha Curcas in Ostafrika in Baumform vorkommt, und dass sie auch weiterhin in neuerer Zeit[2]) als Stütz- und Schattenbaum für Vanilla planifolia in oder bei Dar-es-Salaam erwähnt wird. Auch hier in Ostafrika, vornehmlich in Madagaskar,[3]) aber auch in Westafrika,[4]) ist die blutstillende und kollodiumartige Wirkung des Milchsaftes bekannt. Der Anbau der Pflanze, der im ganzen Tropengebiet kulturell getrieben wird, hat zum Ziel die Gewinnung der Samen, der Curcasnüsse und des daraus gewonnenen Öles. So sind diese, Nüsse wie Öl, vornehmlich letzteres, das Hauptexportmittel der capverdischen Inseln, wie Möller[5]) berichtet. Übereinstimmend hiermit berichtet A. Tschirch[6]), dass die Pflanze dort Heckenpflanze sei. Die Samen tragen die verschiedensten Namen nach Strumpf:[7]) Pinhoês de purga, schwarze Brechnüsse, Purgiernüsse oder grosse Rizinussamen, Semina Ricini majoris seu Pinus infernalis, Nuces catharticae americanae, Barbadosnüsse; auch grosse Purgiernuss, gros pignon d'Inde, pignon de Barbarie, médicinier cathartique und ricin d'Amérique findet sich als Bezeichnung. Ihre pharmakologischen Wirkungen werden im ganzen Verbreitungsgebiet benutzt, aber eine Einigkeit der Ansichten über sie ist keineswegs

---

[1]) Jahresbericht der Pharmazie 1881—82, S. 90.
[2]) Jahresbericht der Pharmazie 1901, S. 7.
[3]) Jahresbericht der Pharmazie 1881—82, S. 108.
[4]) H. W. L. Billingston in Journ. der Pharmazie Elsass-Lothr. 1895, S. 201 (nach Jahresbericht der Pharmazie 1895, S. 10).
[5]) Zeitschrift trop. Landw. 1897, No. 3.
[6]) Handbuch der Pharmakognosie, Lieferung 28, 1913, S. 584.
[7]) Systematisches Handbuch der Arzneimittellehre 1855.

vorhanden. SIEGEL[1]) bemerkt ganz richtig, dass zwei Meinungen vorhanden sind: Die einen halten die Curcasnüsse für ein mildes Abführmittel, während die anderen in ihnen ein drastisches, brechenerregendes Mittel sehen. HUSEMANN hält 2—4 Curcassamen oder 15—20 Tropfen des Öles für ein von Nebenerscheinungen freies Purgans und führt die Abhandlung des Erfurter Doktoranden SCHMIDT vom Jahre 1790 an, der behauptet, die Samen von Jatropha Curcas seien vollständig unschädlich und in entsprechender Dosis ein gar nettes Abführmittel.[2])

Dass diese Ansicht eine irrige ist, hat SIEGEL schon mit Sicherheit nachgewiesen und neuerliche Vergiftungsfälle haben die Gefährlichkeit einer innerlichen Zufuhr von Curcassamen- oder Öl zum Leidwesen der Beteiligten dargetan. Für den Menschen steht es an Gefährlichkeit dem Crotonöl nicht viel nach, wie im Laufe dieser Arbeit gezeigt werden wird.

Dass bei der ausserordentlich bedeutenden technischen Verwendung des Curcasöles nicht häufiger durch Unvorsichtigkeit Intoxikationen vorkommen, ist merkwürdig. Wie gross die Verwendung ist, zeigt die Tatsache, dass von Sierra Leone jährlich etwa 15—18000 Tonnen Curcasöl zur Seifenfabrikation nach Europa ausgeführt wurden.[3]) Um so eigenartiger ist es, dass in den „Verhandlungen des Kolonialwirtschaftlichen Komitees" vom 5. Dezember 1912 unter dem Titel „Ölrohstoffversorgung Deutschlands" kein Curcasöl mehr erwähnt wird.

Die Anwendung des Öles ist natürlich eine rein technische, und zwar kommt vor allem nach GLIKIN[4]) die Fähigkeit des Curcasöles in Betracht, ohne Geruch und Rauch zu brennen und eine schöne feste Seife zu liefern. Es wird auch als Schmieröl verwandt, jedoch wird es von ARCHBUTT zu diesem Zwecke nicht empfohlen, da es sich in 24 Stunden verdickt. Seine Eigenschaften, nach denen es, wie andere Jatrophaöle, z. B. das Öl von Jatropha mahafalensis, zu den halbtrocknenden Ölen zu rechnen ist, machen es nach M. H. BIRMAR[5]) für die angeführten

---

[1]) Über die Giftstoffe zweier Euphorbiaceen. Dissert. Dorpat 1893, S. 8.

[2]) Neues Jahrbuch für Pharmazie, Bd. 29, 1868, S. 130 (zit. nach SIEGEL l. c.)

[3]) Jahresbericht der Pharmazie 1893, S. 9.

[4]) W. GLIKIN, Chemie der Fette, Lipoide und Wachsarten 1912, Bd. II, S. 134 ff.

[5]) Zeitschrift für angewandte Chemie, 26. Jahrgang, 1913, No. 28.

technischen Zwecke gut verwertbar. Ob allerdings eine Toilettenseife aus Curcasöl besonders geeignet für eine rationelle Hautpflege ist, bleibe dahingestellt, denn manche Autoren schreiben auch der Seife aus Curcasöl eine hautreizende Wirkung[1]) zu, während HARTWICH[2]) diese Ansicht nicht teilt.

Als verbotene Anwendung des Öles wird erwähnt die Verfälschung von Crotonöl und anderen öligen Abführmitteln, wobei der Name Oleum Ricini majoris für die Harmlosigkeit des Mittels plaidiert haben mag; berechtigter jedenfalls ist die bekanntere Bezeichnung Höllenöl, Oleum infernale. Dass Curcasöl zum Verfälschen von Olivenöl dient, halte ich mit KLEIN[3]) nicht recht für glaublich, da der kratzende Geschmack den Konsumenten rasch kopfscheu machen würde.

3. Samenbestandteile nach Siegel.[4])

Da im folgenden die Berechnung von Dosen stets auf unversehrte Samen bezogen ist, seien deren Bestandteile nach der sorgfältig von SIEGEL zusammengestellten Tabelle angeführt:

Wasser	= 7.20 %
Asche	= 10.20 „
Öl	= 33.86 „
Zucker . . .	= 47.83 „
Farbstoff . .	
Zellulose . .	
Eiweiss, lösliches.	= 1.11 „

Das Gewichtsverhältnis von Schale, Kernsubstanz und Öl ist derartig, dass man keinen grossen Fehler macht, wenn man jedem Teil ein Drittel des Gesamtgewichtes zuspricht, und da auch andere Autoren[5]) annähernd dasselbe Verhältnis angeben, ist im weiteren Verlauf dieses Verhältnis den Berechnungen zugrunde gelegt.

Dass dem Embryo die Giftigkeit insbesondere zukomme, glaubte man früher,[6]) SOUBEIRAN aber wies überzeugend nach, dass die ganze Kernsubstanz giftig sei, und ORFILA[6]) vergiftete

[1]) W. DYMOCK l. c.
[2]) GEISSLER-MÖLLER l. c.
[3]) Zeitschrift für angewandte Chemie 1898, S. 1012—1025.
[4]) A. SIEGEL l. c.
[5]) ARNANDON u. UBALDINI nach W. DYMOCK l. c.
[6]) STRUMPF l. c.

als Erster Hunde mit 1—3 Drachmen der Kernsubstanz. Der Tod seiner Versuchstiere steht allerdings im Widerspruch mit neueren Versuchen.

Jedenfalls lag aber kein Grund vor, bei den folgenden Untersuchungen zwischen Embryo und Kotyledonen zu unterscheiden.

II. Über Curcin.

1. Frühere Untersuchungen und Darstellungsversuche.

Der erste, der in den Pressrückständen der Samen von Jatropha Curcas nach einem wirksamen Prinzip suchte, war Stillmark.[1]) Ihn berechtigte hierzu die kurz vorher von Kobert und ihm gemachte Entdeckung des toxischen, pflanzlichen Agglutinins Rizin. In den Samen der Jatropha Curcas, die ebenso wie Ricinus communis der Familie der Euphorbiaceen angehört, glaubte er ein weiteres Agglutinin mit toxischen Eigenschaften nachgewiesen zu haben, das allerdings schwächer wirken sollte als Rizin.

In der Folgezeit beschäftigte sich nur A. Siegel,[2]) ebenfalls unter Kobert, wieder mit unseren Samen. Und um sein Resultat gleich vorwegzunehmen, es gelang ihm nicht, ein Agglutinin zu finden; wohl aber konstatierte er das Vorhandensein eines giftigen Körpers, den er als ein Toxalbumin ansprach und mit dem Namen Curcin belegte. Die Giftwirkung sowohl der entölten Samen wie auch des daraus mit destilliertem Wasser gewonnenen Extraktes konnte er an Hähnen bei Verfütterung und an Katzen und Hunden durch intravenöse Injektion nachweisen. Es gelang ihm aber nicht, das Curcin durch eine eiweissfällende Methode unbeschadet seiner Wirksamkeit auszufällen und so von dem offenbar unwirksamen Ballast der übrigen wasserlöslichen Samenbestandteile zu befreien.

Wertvoll sind nun die Feststellungen Siegels, dass dem Curcin weder auf das isolierte Froschherz noch auf Froschmuskulatur eine schädigende Wirkung zukommt. Dagegen sind seine Angaben, die sich auf die Blutwirkung beziehen, inzwischen

---

[1]) H. Stillmark, Arbeiten des pharmakologischen Instituts in Dorpat, III, S. 150.

[2]) A. Siegel, Über die Giftstoffe zweier Euphorbiaceen; Diss. Dorpat, 1893.

überholt. Er hat sich bei seinen Versuchen auf eine Blutart beschränkt, während man inzwischen erkannt hat, dass es ausserordentlich wählerische Agglutinine gibt, die eine Blutart agglutinieren, eine andere unbeeinflusst lassen während eine dritte sogar von ihnen hämolysiert werden kann.[1])

2. Eigene Darstellungsversuche.

Ich habe nun die verschiedensten Blutarten mit Curcin zusammengebracht und zugleich versucht, aus dem roten Auszug durch möglichst milde Ausfällung das wirksame Prinzip in grösserer Reinheit zu bekommen.

Die Samen von Jatropha Curcas, die mir zur Verfügung standen, waren von GEHE & CIE. in Dresden bezogen. Die Firma hatte sie im April 1909 frisch bekommen, sie waren also bei Anstellung meiner Versuche dreieinhalb Jahre alt. Wie weiter unten ausgeführt, waren sie durchaus wirksam im Tierversuch, der auch das einzige Mittel war, die Wirksamkeit der Fällungsprodukte zu erweisen. Meine Auszüge bereitete ich teils aus in entfettetem Zustand bezogenen Samen, teils aus selbst entfetteten Kernen. Bei letzteren war es möglich, die harten schwarzen Samenschalen zu entfernen, während diese den bezogenen Pressrückständen eng beigemengt waren und nicht beseitigt werden konnten. Bei der Berechnung der Konzentrationen wurde dieser Umstand berücksichtigt. Ein Unterschied in der Wirksamkeit von durch Pressen bei 40—50° entfetteten Samen und solchen, denen ich das Öl durch Extraktion mit Petroläther entzogen hatte, liess sich nicht feststellen. Folgende Darstellungsmethoden wurden zur möglichsten Reingewinnung des Curcins angewandt. Es wurde zunächst ein Quantum entfettete Samen mit der 5fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung und einigen Kubikzentimetern (auf 100 ccm 0.5 ccm) Toluol bei 38° 24 Stunden lang digeriert. Nach dieser Zeit, während der hin und wieder die Masse durchgeschüttelt wurde, wurde koliert und mit Natronlauge vorsichtig neutralisiert, wobei ein Teil der Phosphate flockig ausfiel; dann wurde filtriert und so ein klarer, aber dunkelbraun gefärbter Auszug erhalten. Die Färbung stammte nur zum Teil von den beigemengten Samenschalen, denn auch die

[1]) L. ITZKOWITSCH, Über die Wirkung der Bestandteile der Crotonsamen; Diss. Rostock, 1912.

von diesen befreiten Kerne gaben einen wenn auch bedeutend helleren braunen Auszug.

Mit diesem rohen Auszug wurde ein Teil der Versuche angestellt; der Auszug zeigte sich im Tierversuch (s. u.) wirksam.

Da event. ein Agglutinin gesucht wurde, wandte ich als erste Reinigungsmethode folgende für fast alle Agglutinine und Phasine brauchbare Methode an:

a) 100 ccm roher Auszug wurden mit 150 ccm 96 %igem Alkohol versetzt und durchgeschüttelt. Der flockige Niederschlag wurde auf dem Saugfilter möglichst rasch vom Alkohol getrennt und in einer entsprechenden Menge Kochsalzlösung wieder gelöst. Die Eiweissstoffe wurden dabei quantitativ ausgefällt, blieben löslich und ihre Lösung gab Eiweissreaktionen; aber das Gift war bei dieser Prozedur verschwunden. Auch Siegel konstatierte die Vernichtung der Wirksamkeit des Curcins durch diese Fällungsmethode.

b) Stillmark[1]) hat sich seinen Auszug folgendermassen bereitet: Er extrahierte 10 g enthülste Samen mit durch Essigsäure angesäuertem Wasser, aus dem er durch Ferrocyankalium das Eiweiss ausfällte und in schwach alkalischem Wasser wieder löste. Auf diesem Wege erhielt ich eine Giftlösung, in der ein Teil des Giftes jedenfalls erhalten war, die aber bei gleichberechneter Konzentration schwächer wirkte als der rohe Auszug. Siegel erhielt bei der Fällung mit Essigsäure-Ferrocyankalium gänzlich unwirksame Lösungen.

c) Meine weiteren Fällungsresultate stimmen mit denen Siegels überein, indem ich wie er ebensowenig durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat, mit Magnesiumsulfat wie durch Ausfällen mit Blei oder verdünnter Schwefelsäure eine wirksame Lösung erhalten konnte, trotzdem die Eiweissreaktionen der wieder gelösten Fällungen durchaus erhalten waren.

Siegel erzielte nur durch Dialyse eine Trennung der Eiweissstoffe von den Verunreinigungen bei erhaltener Wirksamkeit. Ich habe die Dialyse nicht angewandt, weil es mir gelang, durch folgende, recht schonende Methode eine fast völlige Ausfällung der Eiweissstoffe zu erhalten, ohne dass die Giftigkeit durch diese Behandlung irgendwie gelitten hätte, was ich durch vergleichende Versuche mit dem rohen Extrakt dartun konnte Wenn man nämlich

[1]) l. c.

d) den rohen Auszug mit wenigen Tropfen verdünnter Essigsäure ansäuert (auf 5 ccm 1 Tropfen) und dann konzentrierte 33 %ige Kochsalzlösung zusetzt, bis die Lösung etwa 8 % Kochsalz enthält, so fällt fast das ganze Eiweiss aus und der Niederschlag lässt sich quantitativ zur ursprünglichen Giftigkeit wieder lösen. Das Filtrat enthält dann noch durch Alkohol ausfällbare und wieder lösliche Stoffe, aber das wirksame Prinzip befindet sich, von den meisten Schlacken befreit, in dem auf diese milde Weise erzeugten Niederschlag. Mit diesem Verfahren, dessen Gelingen die Eiweissnatur des Curcins durchaus bestätigt, gelang es bequem, dosierbare Giftlösungen herzustellen und Tieren in wenigen Kubikzentimetern das Gift grosser Samenmengen einzuspritzen; und ebenfalls konnte man bequem die höchsten Konzentrationen in vitro mit Blut zusammenbringen.

3. Tierversuche mit Curcin.

Ich lasse zunächst meine eigenen Tierversuche folgen.

Versuch 1. Aus entfettet bezogenen Curcussamen wurden Pillen zu je 0.3 g geformt und auf diese Art einem Huhn von 1500 g Gewicht im Laufe von 6 Tagen 50 g ölfreie Samen verfüttert. Das Tier zeigte keine Änderung seines Befindens.

Versuch 2. Vierzehn Tage später erhielt dasselbe Huhn 10 ölhaltige, von ihrer harten Schale befreite Samen. Auch hiernach trat keinerlei Wirkung auf.

Hühner wurden zunächst als Versuchstiere gewählt, weil sie ja nicht erbrechen können. Aber sie sind nach anderer Richtung hin unzweckmässig, sie zeigen sich nämlich, wie obige Versuche beweisen, sehr resistent gegen das Curcasgift. SIEGEL erzielte zwar bei einigen Hähnen schon durch Gaben von 8 g pro Kilogramm Durchfall und schliesslich Exitus unter Lungenödem und multiplen Ekchimosen im Darmtraktus, musste in anderen Fällen aber auch heroische Dosen von 70 g pro Kilogramm anwenden. Worauf diese verschiedene Resistenz der Tiere beruht, lässt sich schwer entscheiden. Bei der leichten Zersetzlichkeit des Curcins ist es möglich, dass ein Teil im Darmtraktus zerstört wird. Im weiteren Verlauf habe ich nur Vierfüssler zu Versuchstieren genommen und die Substanzen subkutan einverleibt.

Versuch 3. Einem Kaninchen von 2000 g Gewicht werden die nach Methode a) mit Alkohol gefällten und in 10 ccm physiologischer Koch-

salzlösung wieder gelösten Eiweissstoffe aus 15 g Samen[1]) subkutan injiziert. Nach 36 Stunden war das Tier tot, ohne besondere Symptome gezeigt zu haben.

Sektion: Eine ausgedehnte käsige Pneumonie, die als Todesursache ausreichte, aber natürlich nicht vom Gift verursacht worden war. Einige Ekchymosen in der Schleimhaut des Magenfundus dürfte dagegen vielleicht als Wirkung des einverleibten Eiweisses angesehen werden, wie weitere Versuche zeigten. Die Dosis betrug **7.5 g Samen** pro Kilogramm.

Versuch 4. Ein Kaninchen von 700 g erhielt ein dem obigen analog gefälltes Eiweiss, 5 ccm = 6 g Samen, subkutan. Nach 53 Stunden war keine Wirkung aufgetreten. Nun erhielt das Tier 10 ccm rohen Auszug, der **4.3 g Samen** pro Kilogramm Tier entsprach. Nach 12 Stunden war der Tod eingetreten. Die

Sektion ergab eine starke Blutfüllung der Darmwandgefässe; sonst waren keine Veränderungen zu finden.

Die zweite, d. h. die wirksame Giftmenge entsprach ca. **4.3 g Samen** auf 1 kg Tier.

Versuch 5. Ein Kaninchen von 2500 g erhielt mit destilliertem Wasser bereiteten Curcasauszug, der nachträglich durch eine entsprechende Kochsalzmenge isotonisch gemacht war, in einer Menge von 10 ccm entsprechend 4 Samen subkutan eingespritzt. (Die Samen waren in diesem Falle von mir selbst entfettet.) In den nächsten zwei Tagen trat rasselndes Atmen auf, am dritten Tage war das Tier wieder munter. Es folgte eine Injektion eines konzentrierten Extraktes, die ihm die Eiweissmenge von 6 g Samen subkutan einverleibte. Die Folge war wieder Dyspnöe und das Auftreten von etwas Eiweiss im Harn. Nach drei Tagen waren die Erscheinungen abgeklungen.

Das Tier erhielt bei der ersten Injektion 1.6 g Samen, bei der zweiten **2.4 g Samen** pro Kilogramm.

Versuch 6. Einem Kaninchen von 1500 g wurden pro Kilogramm 3 g Samen in Gestalt von rohem Auszug eingespritzt. Das Tier war nach 80 Stunden tot. (Die Kerne waren von mir selbst entfettet.)

Sektion: Ziemlich zahlreiche Ekchymosen im Blinddarm, in der Schleimhaut der Appendix, blutige Infiltration der Drüsen an der Ileocoecalklappe und der Drüsenpakete an der Mesenterialwurzel. Eiweiss im Harn.

Die bisher angeführten Versuche zeigen, dass in den Auszug Giftstoffe übergehen, die imstande sind, Kaninchen unter typischem Sektionsbefund zu töten. Die Ähnlichkeit des Befundes mit dem bei Rizinvergiftung ist eklatant, bei beiden herrschen Ekchymosen des Darmtraktus und Veränderungen der Bauchlymphdrüsen vor. Nur ist Rizin bedeutend giftiger, indem schon weniger als 1 mg pro Kilogramm Körpergewicht genügt, um einen Hund zu töten,[2]) während die Berechnung der Dosis für unser Gift, das Curcin, folgendes ergibt:

---

[1]) Die Berechnung der Dosis erfolgte immer auf unversehrte, also ölhaltige und nicht geschälte Samen.

[2]) Arb. d. pharmak. Instituts zu Dorpat, III, S. 136 ff.

Nach SIEGEL[1]) enthalten Curcassamen 1.11 %iges Eiweiss. Wenn nun das Curcin, wie aus dem ganzen Verhalten hervorgeht, als Toxalbumin angesprochen werden muss, so braucht es doch nicht die Gesamtmenge des Eiweisses in den Samen auszumachen. Der bequemen Rechnung halber kann man vielleicht annehmen, dass rund 1 % des Samengewichts von Curcin ausgemacht wird. Dosen, welche unter 3 g Samen pro Kilogramm Kaninchen blieben, vermochten diese nicht zu töten, 3 g war gerade die günstige Dosis, bei der der Exitus so weit herausgeschoben wurde, dass sich pathologische Veränderungen in genügender Weise ausbilden konnten. Sonach wäre nach unserer Rechnung 0.03 g Curcin pro Kilogramm subkutan die tödliche Dosis für Kaninchen.

Die Parallele mit Rizin geht noch weiter. Beim Neutralisieren des Rohauszuges fallen flockig die Phosphate aus, und ebenso, wie diese Rizin mit niederreissen,[2]) machen sie es auch mit dem Curcin; es gelingt aber nicht, einen wirksameren Auszug zu erhalten, wenn man dieses Ausfällen umgeht, indem man die Reaktion während des Extrahierens dauernd schwach alkalisch hält:

Versuch 7. Ein Kaninchen von 1500 g erhält eine Lösung (ganz schwach sauer durch Essigsäure) der beim Neutralisieren des Rohauszuges für Versuch 5 ausgefallenen Phosphate subkutan. Nach 40 Stunden war das Tier tot.

Die Sektion ergab keine Veränderungen.

Versuch 8. Von einem auf alkalischem Wege hergestellten Auszug wurden einem Kaninchen von 900 g 10 ccm = 3 g Samen unter die Haut gespritzt. Nach 20 Stunden starb das Tier plötzlich.

Sektion: Die Injektionsstelle war ödematös, das einzige Mal, dass eine lokale Reaktion eintrat und diese war auf die wenn auch schwache Alkaleszenz der Einspritzung zurückzuführen. Sonst keine Veränderungen.

Versuch 9. Als Kontrolltier zum vorhergehenden und folgenden Versuch wurden einem 800 g schweren Kaninchen 10 ccm eines Rohauszuges = 3 g Samen subkutan injiziert. Dieses Tier war das einzige, dessen Tod von mir beobachtet werden konnte, da die übrigen alle nachts zum Exitus kamen. Nach 21 Stunden setzten ziemlich plötzlich Dyspnöe und Krämpfe ein, die sich in Pausen von einigen Minuten wiederholten. Die Atempausen wurden immer grösser, die klonischen Krämpfe gingen immer mehr in einen Opistotonus über und in diesem Zustande trat der Tod ein.

Sektion: An der Pulmonalklappe fand sich eine kleine Blutung, das Herz stand in Diastole. Eine Lymphdrüse am Magen war blutig infiltriert.

---

[1]) l. c. S. 23.

[2]) Arb. des pharmak. Instituts zu Dorpat, III, S. 118.

Die Schleimhaut des Coecums und der Wurmfortsatz in ganzer Dicke waren entzündet und mit Ekchymosen besetzt, vor allem auch die Plaque an der Ileocoecalklappe.

Versuch 10. Von der nach STILLMARK [S. 123, b)] mit Essigsäure-Ferrocyankalium bereiteten Curcinlösung wurden einem Kaninchen von 900 g 10 ccm = 9 g Samen injiziert. Nach 36 Stunden war das Tier tot. Die Sektion ergab: Multiple punktförmige Ekchymosen unter der Serosa der Appendix.

Dieser Versuch beweist die oben angegebene Möglichkeit, das Curcin mit Ferrocyankalium aus dem essigsauren Rohauszug fällen zu können, spricht also für die Eiweissnatur. Zugleich zeigt es aber, dass diese Fällungsmethode einen Teil des Curcins vernichtet, denn das Tier in Versuch 9 bekam die dreifach grössere Dosis wie das Tier in Versuch 8 und lebte doch 15 Stunden länger. Dagegen ist die oben unter d) angegebene Essigsäure-Kochsalzfällung eine das Curcin schonende Reinigungsmethode, die es erlaubt, das Gift quantitativ niederzuschlagen und in reinere Lösung zu bringen, wie folgende Versuche zeigen:

Versuch 11. Ein Kaninchen von 1700 g bekam 8.5 ccm reine Curcinlösung [nach d)] subkutan injiziert. Nach 33 Stunden war es tot.

Sektion: Multiple Ekchymosen in der Schleimhaut des Magenfundus und der Appendix. Nieren sehr blutreich. Die Dosis entsprach nur **2 g Samen** pro Kilogramm d. h. **20 mg Curcin** pro Kilogramm.

Versuch 12. Ein Kaninchen von 2100 g erhielt 6.5 ccm Curcinlösung (rein), von der 1 ccm 1 g Samen entsprach, unter die Haut gespritzt. Nach 14 Stunden starb das Tier.

Sektion: Zahlreiche punktförmige Ekchymosen in der Magenschleimhaut und vor allem in der des Wurmfortsatzes. Die Dosis betrug **3 g Samen** pro Kilogramm d. h. **30 mg Curcin** pro Kilogramm.

Die mit Essigsäure-Kochsalzfällung hergestellte Curcinlösung wirkte also tödlich, wenn sie auf 1 kg Tier die etwa 2—3 g Samen entsprechende Eiweissmenge, d. h. 20—30 mg Curcin enthielt, ein Verhalten, das durchaus dem des Rohauszuges entspricht und beweist, dass die gesamte Curcinmenge schonend ausgefällt wurde. Zugleich dürfte durch diese Reinigungsmethode in Gemeinschaft mit der STILLMARKS, wenn diese letztere auch nur teilweise gelang, genügend sicher gestellt sein, dass das Curcin den sogen. Toxalbuminen zuzurechnen ist, zumal Rohauszüge aus den entölten Samen bei 60° unter Koagulation der Eiweissstoffe ihre Wirkung verlieren[1]).

[1]) A. SIEGEL l. c. S. 20.

Im weiteren Gang der Versuche wurde die Curcinlösung Fischen zu ihrem Wasser zugegeben, wie dies KOBERT mit Saponinen und GEINITZ[1]) mit ätherischen Ölen getan haben. Einwandfreie Resultate wurden aber nicht erhalten, da nach 30 Stunden, und solange lebten auch die Curcinfische, die Kontrollfische ebenfalls Störungen zeigten; auf keinen Fall war eine besondere Empfindlichkeit der Fische gegen Curcin nachzuweisen.

Und ebenso verhielt es sich mit Fröschen, wie folgende Versuche zeigen:

1. Frosch von 50 g erhält 1 ccm Curcasauszug (= 0.6 g Samen) in den Rückenlymphsack. Nach 4 Tagen ist keine Wirkung eingetreten.

2. Frosch von 30 g erhält 1 ccm Curcinlösung (= 2 g Samen) in den Lymphsack. Nach 5 Tagen auch hier keine Wirkung festzustellen.

REID[2]) stellte fest, dass nach entsprechenden Rizindosen Kröten und Frösche in längstens 3 Tagen unter typischem Befund starben.

Dass Hühner auf per os verabfolgte Curcasrückstände und auch ölhaltige Curcassamen nicht reagieren, ist oben schon angeführt. Aber auch andere Versuchstiere verhalten sich ebenso. Anlässlich der weiter unten erwähnten Hamburger Vergiftung wurden von LIPPMANN[3]) folgende Versuche angestellt:

Zwei Meerschweinchen von 330 g erhielten nüchtern mit der Schlundsonde je 3 g zermahlene Nüsse, worauf keinerlei Wirkung bis auf zwei normale Stühle auftrat. Darnach erhielten sie Gaben von 6 g; keine Wirkung. (Die Dosis letalis subcutanea für Kaninchen ist um das sechsfache damit überschritten.)

Ein Kaninchen von 1900 g erhielt per os 5 g, das nächste Mal 15 g Nüsse. Auch bei dieser, für subkutane Verabfolgung fünffach letalen Dosis trat keine Wirkung ein.

Bei weiteren Versuchen reagierten nur Hunde, und zwar mit Erbrechen. Da dies aber auf den Ölanteil der Samen zu schieben ist, wird von diesen Versuchen erst weiter unten die Rede sein.

---

[1]) R. GEINITZ, Vergleichende Versuche über die narkotischen und desinfizierenden Wirkungen der gangbarsten ätherischen Öle und deren wirksamen Bestandteilen. Sitzungsberichte und Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock. Neue Folge Bd. IV, S. 48 (ausserdem Preisarbeit).

[2]) G. REID, Beiträge zur Kenntnis der chemischen Natur und des biologischen Verhaltens des Rizins. Siehe oben S. 81.

[3]) LIPPMANN, Zwei Fälle von schwerer Vergiftung durch Curcasnüsse. Med. Klinik 13, 1913.

Bei der chemischen Empfindlichkeit des Curcins ist wohl anzunehmen, dass die Säuremenge des Magensaftes schon genügt, das Gift zu zerstören, wobei das Pepsin noch mithelfen mag. Dass schon einige Tropfen verdünnter Schwefelsäure auf 100 ccm Curcasauszug genügen, um das Curcin zu zerstören, habe ich bei den Versuchen, es mit Säuren zu fällen, jedenfalls feststellen können.

Die Organe der von mir mit Curcin vergifteten Tiere boten folgende histologische Veränderungen:

Als am meisten betroffenes Organ imponierte der Darm. Es fanden sich fast in jedem Falle subseröse Blutextravasate mit vereinzelten Rundzellen in der Umgebung, und in jedem Falle waren submucöse und intramucöse Blutaustritte vorhanden und besonders ins Auge springend Nekrosen innerhalb der Payerschen Plaques. Aber auch andere lymphatische Apparate waren beteiligt; so fanden sich manchmal in den Lymphknoten an der Mesenterialwurzel ausgedehnte Zellnekrosen und Blutaustritte, und besonders drängten sich diese Erscheinungen zusammen in dem Komplex von Lymphfollikeln an der Valvula Bauhini und in dem Appendix.

Die Niere zeigte meist, wenn auch nicht in allen Fällen grosse Blutfülle und Degeneration der Epithelien der Tubuli contorti.

In der Leber fand sich manchmal eine am Rande der Acini beginnende Nekrose, begleitet von Stauungserscheinungen.

Im Vordergrund stehen also Veränderungen des lymphatischen Apparates und Blutaustritte in die Gewebe, besonders des Darmes und der zugehörigen Lymphdrüsen, also rizinähnliche[1]) Erscheinungen.

4. Blutversuche mit Curcin.

Es handelte sich nun noch darum, die Wirkung festzustellen, die das Curcin auf das Blut ausübt. Stillmark hatte diese, wie oben angeführt, durchaus rizinähnlich, nur etwas schwächer gefunden, Siegel bestritt eine agglutinierende Fähigkeit des Curcins. Es wurden daher von mir die verschiedensten Blutarten, serumhaltig und serumfrei, durchweg in 2 %iger Aufschwemmung der Wirkung des Giftes ausgesetzt. Beobachtet wurde 6—24 Stunden lang, und sowohl der Rohauszug aus Curcaspressrückständen wie die gereinigte Curcinlösung wurden in wechselnder Konzentration geprüft.

---

[1]) Kobert, Beiträge zur Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine, S. 29 ff.

Es folgen einige beweisende Versuche, bei denen die jeweilige Anordnung so getroffen wurde, dass jedesmal sieben Reagenzgläser zur Aufstellung kamen; alle waren mit je 5 ccm einer zweiprozentigen Aufschwemmung der betreffenden Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung beschickt. Nun wurde der Reihe nach hinzugefügt in das erste Röhrchen 5 ccm Kochsalzlösung, in das zweite 1 ccm Giftlösung + 4 ccm Kochsalzlösung, in das dritte 2 ccm Giftlösung + 3 ccm Kochsalzlösung und so fort bis 5 ccm Giftlösung + 0 ccm Kochsalzlösung; das siebente Röhrchen diente als zweite Kontrolle und wurde ebenso wie das erste beschickt.

Bei einigen Versuchen wurde allerdings, weil manchmal nur begrenzte Mengen Giftlösung verfügbar waren, die Anordnung dahin geändert, dass nur gleiche Teile Blutkörperchenaufschwemmung und Giftlösung gemischt wurden neben den selbstverständlich stets aufgestellten Blut-Kochsalzkontrollen.

1. Menschenblut, gewonnen aus Plazenten, in 2 %iger Aufschwemmung:

a)	5 ccm	Blut	+ 5	ccm	physiol.	Kochsalzlösung	als erste Kontrolle;		
b)	5 „	„	+ 4	„	„	„	+ 1	ccm	Rohauszug,
c)	5 „	„	+ 3	„	„	„	+ 2	„	„
d)	5 „	„	+ 2	„	„	„	+ 3	„	Auszug,
e)	5 „	„	+ 1	„	„	„	+ 4	„	„
f)	5 „	„	+ 0	„	„	„	+ 5	„	„
g)	5 „	„	+ 5	„	„	„	als zweite Kontrolle.		

Nach 24 Stunden hatten sich in allen Röhrchen die Blutkörperchen zu Boden gesetzt, liessen sich aber durch leichtes Umkehren in der ganzen Flüssigkeit verteilen, ohne sich rasch wieder zu senken: Es war keine Agglutination und keine Hämolyse eingetreten.

Der Versuch wurde wiederholt, auch mit der durch Alkoholfällung gewonnenen Curcinlösung, die sich ja allerdings im Tierversuch als nur wenig wirksam erwiesen hatte, mit negativem Erfolg. Aber auch die durch Essigsäure-Kochsalzfällung gewonnene, reine und sehr giftige Curcinlösung war unwirksam auf Menschenblut.

2. Frisches, serumfreies Taubenblut in 2 %iger Aufschwemmung.

a)	3 ccm	Blut	+ 3	ccm	Kochsalzlösung,	
b)	3 „	„	+ 3	„	Curcasauszug,	nach 6 Stunden keine Wirkung;
c)	3 „	„	+ 3	„	durch Alkoholfällung gewonnene Curcinlösung,	
d)	3 „	„	+ 3	„	Abrinlösung, 2 % (vom Jahre 1888!),	fast augenblicklich Agglutination;
e)	3 „	„	+ 3	„	Curcasauszug ohne Toluolzusatz,	keine Wirkung.

Also auch Taubenblut, d. h. die für Rizin empfindlichste Blutart, wurde vom Curcin gänzlich unbeeinflusst gelassen, während Abrin sofort seine Wirkung entfaltete. Dieses Resultat bestätigt auch folgender Versuch, zu dem von mir selbst auf schonendste Weise kalt mit Petroläther entfettete und sauber geschälte Samen extrahiert wurden:

a) 5 ccm 2 %iges Taubenblut + 5 ccm Kochsalzlösung,
b) 5 „ 2 „ „ + 1 „ Auszug,
c) 5 „ 2 „ „ + 2 „ „
d) 5 „ 2 „ „ + 3 „ „
e) 5 „ 2 „ „ + 4 „ „
f) 5 „ 2 „ „ + 5 „ „
} mit Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt;
g) 5 „ 2 „ „ + 5 „ Kochsalzlösung.

Nach 24 Stunden war keine Agglutination und keine Hämolyse eingetreten.

Serumfreies Taubenblut ist ausserordentlich empfindlich; es zeigt im übrigen manchmal spontanes Zusammenkleben der Blutkörperchen, ein Vorkommnis, das durch spurweis saure oder alkalische Reaktion eines zugesetzten Extraktes begünstigt werden kann. Eine wahre Agglutination kann aber dadurch nicht vorgetäuscht werden, da bei genügend langem Zuwarten in diesem Falle auch die nur mit Kochsalz beschickten Kontrollen das Zusammenkleben zeigen.

3. Hammelblut, verwandt als 2 %ige Aufschwemmung in physiol. Kochsalzlösung:

a) 5 ccm Blut + 5 ccm Kochsalzlösung,
b) 5 „ „ + 2 „ Curcasauszug + 3 ccm Kochsalzlösung,
c) 5 „ „ + 5 „ „ „
d) 5 „ „ + 5 „ Kochsalzlösung.

Nach 6 Stunden keine Agglutination und keine Hämolyse; auch am andern Tage nach 24 Stunden keinerlei Beeinflussung der Blutkörperchen.

4. Rinderblut 2 %ig, in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt:

a) 5 ccm Blut + 5 ccm Kochsalzlösung,
b) 5 „ „ + 5 „ Curcasauszug.

Nach 24 Stunden war kein Unterschied zwischen beiden Gläsern zu bemerken; ebensowenig wie bei folgendem Versuch:

a) 5 ccm serumfreies Blut + 5 ccm Kochsalzlösung,
b) 5 „ „ „ + 2 „ Curcasauszug
+ 3 „ Kochsalzlösung,
c) 5 „ „ „ + 5 „ „

nach 6 Stunden weder Agglutination noch Hämolyse zu erkennen war.

5. Meerschweinchenblut, vom ganz frisch geschlachteten Tier, zu 2 % in Kochsalzlösung verteilt, gab auch kein positives Resultat:

a) 3 ccm Blut + 3 ccm Kochsalzlösung,
b) 3 „ „ + 3 „ Curcasauszug,
c) 3 „ „ + 3 „ durch Alkohol gefällte Curcinlösung,
d) 3 „ „ + 3 „ Curcasauszug ohne Toluolzusatz.

Nach 5 Stunden abgelesen ergab sich keine Agglutination oder Hämolyse, ebensowenig nach 24 Stunden.

In genau derselben Weise, wie die bisher angeführten Versuche dartun, wurden nun noch folgende Blutarten geprüft:

6. Kaninchenblut,
7. Katzenblut,
8. Pferdeblut,
9. Hühnerblut und
10. Froschblut,

wobei 8. und 10. auch mit dem durch Kochsalz-Essigsäure gefällten Curcin in konzentrierter Lösung, 1 ccm entsprechend 3 g Samen, zusammengebracht wurden, ohne dass in irgend einem Fall eine Beeinflussung der Blutkörperchen eingetreten wäre.

Selbst wenn Curcin sich ähnlich verhielte wie Crotin, müsste unter den untersuchten zehn Blutarten doch mindestens eine gewesen sein, die nach der einen oder anderen Richtung hin darauf reagiert. Folgende Tabelle, die ich nach ITZKOWITSCH[1]) zusammenstellte, zeigt das dreifache Verhalten verschiedener Blutarten in Gegenwart von Crotin:

Agglutination	Hämolyse	Keine Beeinflussung
Frosch	Kaninchen	Mensch
Hammel	Hahn	Meerschweinchen
Rind	[Schlange]	Katze
Schwein	[Igel]	Pferd

Die auf Curcin nicht geprüften Blutarten sind eingeklammert. Die übrigen sind in obigen Versuchen alle geprüft, und so kann man wohl mit Recht dem Curcin, jeden Einfluss auf Blutkörperchen, soweit er sich im Reagenzglase sichtbar machen lässt, absprechen. Mit Hilfe des Versuches im Reagenzglas an defibriniertem Blut ist Curcin also nicht nachweisbar; es kann also bei derartigen Versuchen auch niemals mit Rizin verwechselt werden.

Ferner wurden noch Suspensionen von Hirnzellen, und zwar solcher vom Menschen und von der Katze, geprüft, die mit manchen Agglutininen ebenfalls reagieren;[2]) auch ohne jeden Erfolg. Wenn Curcin also auch toxisch auf Nervenzellen wirken mag, so verankert es sich jedenfalls nicht in der

[1]) L. ITZKOWITSCH, Über die Wirkung der Bestandteile der Crotonsamen. Diss. Rostock 1912.

[2]) G. REID, Beiträge zur Kenntnis der chemischen Natur und des biologischen Verhaltens des Rizins. Siehe oben S. 81.

Weise im Reagenzglase mit ihnen, wie Reid dies jetzt wieder für Rizin nachweisen konnte.

Da Siegel einen hemmenden Einfluss des Curcins auf die Blutgerinnung festgestellt hatte, so wurde nunmehr reine Curcinlösung auf undefibriniertes Blut geprüft.

Versuch: Vier Reagenzgläser wurden mit je 5 ccm folgender Flüssigkeiten beschickt:

a) 5 ccm physiologische Kochsalzlösung,
b) 5 „ Curcinlösung 1 ‰ (1 ccm = 0.1 g Samen),
c) 5 „ „ 5 „ (1 „ = 0.5 „ „),
d) 5 „ „ 10 „ (1 „ = 1.0 „ „).

In jedes der Gläschen wurden aus der Jugularvene eines lebenden, nicht narkotisierten Kaninchens je 5 ccm Blut in gleichmässigem Strome gefüllt, das Glas einmal zur besseren Mischung umgekehrt und von diesem Moment an die Gerinnungszeit bestimmt. Dabei ergab sich folgendes:

In Glas	begann die Gerinnung nach		war die Gerinnung vollendet nach	
	Minuten	Sekunden	Minuten	Sekunden
a) physiol. Kochsalzlösung . . .	5	30	7	30
b) 1 ‰ Curcinlösung	3	15	8	45
c) 5 „ „	11	45	19	30
d) 10 „ „	88	—	125	—

Ergebnis: Das Curcin übt also einen deutlich hemmenden Einfluss auf den Gerinnungsvorgang des Blutes aus. Diese Angabe Siegels besteht also durchaus zu Recht. Es erinnert diese Wirkung an die des Hirudins. Aus der Reihe der pflanzlichen Blutagglutinine muss man also das Curcin streichen; Tschirsch[1]) zählt es noch dazu. Wenn Siegel,[2]) gestützt auf Alexandrr Schmidt, zufolge der gerinnungshemmenden Eigenschaft grosser Dosen des Curcins eine gerinnungsfördernde Wirkung kleiner Dosen in corpore annimmt, so ist das eine heutzutage nicht mehr stichhaltige Vorstellung. Er gibt auch selbst zu, dass diese Ansicht sich schwerlich beweisen lasse. Weiter gibt er an, in den Gefässen des Hahnenkropfes Thromben gefunden zu haben; bei meinen Tieren habe ich derartiges nie gesehen, und ich bin

[1]) A. Tschirsch, Handbuch der Pharmakognosie, Lieferung 28, S. 634.
[2]) A. Siegel, l. c.

geneigt, die Ekchymosen als Blutaustritte durch die geschädigte Gefässwand anzusehen, ohne dass das Gefäss selbst verlegt wäre.

Obwohl das fehlende Agglutinationsvermögen bei Versuchen im Reagenzglas das Curcin also von den pflanzlichen Toxalbuminen der Rizinreihe scheidet, gehört es nach dem Ergebnis der Vergiftungen von Tieren doch eng zu dieser Gruppe von Giften und musste daher in dem Zyklus von Arbeiten unseres Institutes über Rizin und verwandte Substanzen mit berücksichtigt werden.

III. Uber das Curcasöl.

1. Frühere Untersuchungen.

Wenn das Curcin schon mit den Toxalbuminen anderer Euphorbiaceen vergleichbar ist, so ist bei dem Curcasöl ein Vergleich mit dem Öle von Croton Tiglium noch näherliegend. Seine drastischen Eigenschaften sind schon sehr lange bekannt und ähneln qualitativ denen des Crotonöls, nur dass die Wirkung beim Menschen erst bei grösseren Dosen eintritt. Von Crotonöl genügt ein Tropfen, um Entleerungen, ja Enteritis zu erzeugen, von Curcasöl musste Siegel[1]) 8 Tropfen nehmen, um Erbrechen und Durchfall zu bekommen.

Diese drastische Wirkung des Curcasöles scheint überall, wo die Pflanze vorkommt, bekannt zu sein; auch in zivilisierten Ländern hat das Höllenöl Oleum infernale eine medizinische Rolle gespielt und zum Aufsuchen des wirksamen Prinzips aufgefordert.

Pelletier und Caventon hatten irrtümlicherweise Crotonsamen in Händen, als sie das Wirksame der Curcassamen isolieren wollten. Sie nannten die gefundene flüchtige Säure Jatrophasäure, die Buchner und Brandes später mit dem richtigeren Namen Crotonsäure[2]) belegten.[3]) Joh. Nimmo aus Glasgow erging es umgekehrt, er glaubte Crotonsamen zu haben und untersuchte

[1]) Kobert, On the toxic constituents of Jatropha Curcas and Croton tiglium. Bulletin of Pharmacy, May 1893.

[2]) Diese Crotonsäure entspricht natürlich nicht einer der jetzigen Crotonsäuren $C_4H_6O_2$, die im rohen Holzessig und im äth. Kamillenöl vorkommen, dagegen nicht im Crotonöl.

[3]) A. Tschirsch, Handbuch der Pharmakognosie, Lieferung 28, S. 583, Strumpf, Systematisches Handbuch der Arzneimittellehre II, 1855, S. 219,

Curcassamen und Öl.[1]) Er erhielt aus 100 Teilen Samen 64 Teile Kerne und 36 Teile Schale. Jene gaben 27.5 in Weingeist löslichen scharfen Stoff (Tiglin), 32.5 mildes, in Terpentinöl lösliches Öl und 40.0 in beiden unlöslichen mehligen Stoff. Er fand also schon die teilweise Unlöslichkeit des Öles in Alkohol, und spricht dem unlöslichen, in Terpentinöl löslichen Ölanteil eine Wirksamkeit ab. Cachet de Gassicourt[2]) fand in dem fetten Öl einen bitteren, harzigen Stoff. Bonis[3]) trennte eine flüssige und eine feste Fettsäure (Jsoceticsäure) (1854) aus dem Öl ab.

Siegel[4]) beschäftigte sich dann unter Kobert eingehend im Jahre 1893 mit dem Curcasöl, indem er besonders auf die chemische Zerlegung desselben Wert legte. Er kommt zu dem Resultat, dass es aus Glyzeriden der Palmitin-, Myristin- und einer Säure, die analog der Rizinolsäure als Curcanolsäure zu bezeichnen wäre, besteht; ferner enthalte es noch einen harzartigen Körper und Eiweisskörper, welche beim Erhitzen oder längeren Stehen ausfallen. Versuche führte er mit emulgiertem Curcasöl an Katzen, Kaninchen und Igeln aus, wobei sich zeigte, dass Katzen nach etwa 1 g Öl pro Kilogramm Durchfall und manchmal auch Erbrechen bekamen, während Kaninchen und Igel sich als gänzlich resistent gegen das Öl erwiesen. Diese Versuchsergebnisse stimmen mit den oben angeführten Versuchen von Lippmann in Hamburg gut überein, bei denen Meerschweinchen und Kaninchen durch ganze Samen ebenfalls nicht alteriert wurden. Kaninchen sind überhaupt gegen per os verabfolgte giftige Fette wenig empfindlich, denn Müller[5]) fand, dass auch Chaulmugrasäure bei Kaninchen keine Erscheinungen auslöst. Bei intravenöser Verabfolgung geringer Mengen von Curcasölemulsion fand Siegel bei Katzen keine Wirkung; nur ein Hund erbrach und starb an Schluckpneumonie.

---

[1]) Strumpf l. c.

[2]) Journ. de pharm. XV, 503 ff. (nach Strumpf l. c.).

[3]) The national Dispensatory by Stillé and Maisch, pag. 483.

[4]) Siegel, Über die Giftstoffe zweier Euphorbiaceen, Diss. Dorpat 1893.

[5]) H. Thoms und F. Müller, Arbeiten aus dem pharmazeutischen Institut der Universität Berlin, Neunter Band, 1911, S. 215 ff.

2. Eigene Versuche mit Curcasöl.

a) Allgemeines über das Öl und den Gang der Untersuchung.

Wenn ich auch bei meiner Untersuchung die Toxikologie des Höllenöls in den Vordergrund gerückt habe, so möchte ich doch das chemische Verhalten des Öles durch folgende Tabelle, die der „Chemie der Fette, Lipoide und Wachsarten" von W. GLIKIN[1]) entnommen ist, kurz charakterisieren:

(Siehe die Tabelle auf S. 137.)

Das von mir verwendete Ol war von GEHE, Dresden, bezogen, besass ein spezifisches Gewicht von 0.91, war gelb gefärbt und aus den Samen in der Wärme gepresst worden. Das selbst extrahierte Öl war heller, weil die Samenschalen vorher entfernt waren. Eine hautreizende Wirkung, wie dem Crotonöl, kommt dem Curcasöl nicht zu,[2]) wohl aber erinnert es in Geruch und Geschmack entfernt an ersteres, indem es zunächst ölig schmeckt, dann aber im Halse kratzt. — Zur Darstellung der giftigen Fettsäure liess sich mit Erfolg nur die Methode anwenden, die HIRSCHHEYDT, von KOBERT veranlasst, auf Crotonöl[3]) angewandt hat, und die sich die verschiedene Löslichkeit der entsprechenden Barytseifen gegen Alkohol und Äther zunutze macht. Als Versuchstier wurde von Anfang an der Frosch verwandt. Dieser hat[4]) in viel höherem Maſse wie Säugetiere auch ausserhalb des Darmtraktus fettspaltende Fermente; denn selbst Naphthalol,[5]) das durch dieselben Fermente zerlegt wird, spaltet der Frosch in höherem Maſse wie der Warmblüter, trotzdem dessen Schmelzpunkt bei 95° liegt. Es traten denn auch, wie nach subkutaner Applikation von Crotonöl, bei den Fröschen nach Curcasöl Allgemeinerscheinungen ein, die die Tiere unter ausserordentlich typischem

[1]) W. GLIKIN, Chemie der Fette, Lipoide und Wachsarten, 1912, Bd. II, S. 134 ff.

[2]) EULENBURG, Realenzyklopädie der gesamten Medizin, unter „Jatropha".

[3]) Über die Crotonölsäure R. BUCHHEIMS, Arb. des pharmakol. Inst. zu Dorpat, Bd. IV, S. 30 ff.

[4]) Über die Crotonölsäure R. BUCHHEIMS, Arb. des pharmakol. Inst. zu Dorpat, Bd. 4, 1890, S. 71.

[5]) R. KOBERT, Über Naphthalol oder Betol, Therapeut. Monatshefte, Jahrg. 2, 1888, S. 220.

Autor:	Spez. Gewicht	Erstarrungspunkt	Verseifungszahl	Jodzahl	Hehnerzahl	Reichert-Meissl-Zahl	Acetylzahl	Mauméné-probe	Refraktion im Butterrefraktometer	Brechungsexponent bei 25° C.
De Negri, Fabris	0.920	—	210.2	100.9	—	—	—	—	—	—
Arnaudon u. Ubaldini	0.915	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schädler	0.915	— 12°	—	—	—	—	—	—	—	—
Girand	0.911	— 8°	—	—	—	—	—	—	—	—
Horn	0.9192	—	230	127	87.9	0.65	—	—	—	—
Lewkowitsch	0.9204 bei 15.5°	— 8°	193.2	98.3	95.9	0.55	9.02	—	25° 65 40° 56.6	—
Peckolt	0.9203 bis 0.9224 bei 15.5°	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Klein	0.9192 bis 0.924	—	197 bis 203.6	107.9 bis 110.4	—	—	—	—	—	1.4681 bis 1.4689
Niederstadt	—	—	198.35 bis 203.0	72.75	—	—	—	—	—	—
Archbutt	—	—	—	—	—	—	—	65 bis 66.6	—	—
Siegel[1])	—	0°	231	130	—	0.55	—	—	—	—

[1]) Siegel, l. c. S. 12 ff.

Sektionsbefund sterben liessen. Nur lag die letale Dosis bei Curcasöl bedeutend höher als bei Crotonöl, und die Erscheinungen setzten nicht so stürmisch, sondern im Verlauf von einigen Tagen ein.

Der Befund, den die Tiere bei der Sektion boten, war folgender. Ekchymosen beherrschten das Bild. Vor allem die Mundschleimhaut zeigte Blutungen, die bald nur punktförmig waren, bald in gewaltiger Ausdehnung in die gesamte Rachen- und Gaumenschleimhaut hinein erfolgt war. Die Blutung war häufig so heftig, dass Blut verschluckt wurde und in dem an sich stets intakten Magen gefunden wurde; manchmal erfüllte es auch den Darm bis zum Rectum. Ja, einige Frösche lagen am Tage nach der Injektion in einer Blutlache, die ihnen aus dem Maule gelaufen war; kurz, manche Tiere verbluteten direkt, sei es nach aussen, sei es in ihren eigenen Darmtraktus hinein, aber stets stammte das Blut nur aus der Mundhöhle, wie beim Crotonölfrosch.[1]) Die Applikationsstelle, der Rückenlymphsack, war bei der Sektion stets noch mit emulgiertem Öl angefüllt, manchmal war auch, als Zeichen lokaler Reizung, in ihn hinein eine Blutung erfolgt; fast immer zeigte die Muskulatur des Rückens und der Schenkel kleine blutige infiltrierte Flecke. Der Darm unterhalb des Magens war fast immer stark gerötet, und bei weiblichen Fröschen war auch sehr oft der Eileiter von Ekchymosen durchsetzt. Es gibt zwar eine bakterielle Krankheit der Frösche, die mit Blutungen einhergeht, aber diese war auszuschliessen, da zur selben Zeit im Institut kein anderer Frosch solche typischen Ekchymosen zeigte.

An den Eileiterekchymosen konnte man besonders gut mikroskopisch nachweisen, dass das Blut wirklich aus den Gefässen, deren Wandungen offenbar geschädigt waren, frei zwischen die Zellen in die Gewebsspalten hinein ausgetreten war. Dasselbe Bild ergab sich an Schnitten der Zunge in Muskulatur und Schleimhaut. Defekte Stellen der Gefässwand waren nicht zu entdecken.

b) Physikalische Zerlegung des Curcasöles.

Vorstehende Versuche waren mit dem „ganzen“ Öle gemacht worden. Es lag mir daran, es zu zerlegen und zu prüfen,

---

[1]) L. ITZKOWITSCH, l. c.

welcher Anteil der wirksamste ist. Um das Öl und die daraus hergestellten Fraktionen Fröschen in gut dosierbarer und leicht resorbierbarer Form einspritzen zu können, stellte ich mir Emulsionen mit Hilfe von Gummi arabicum her. Meist wurden diese, auch von den einzelnen Fraktionen, 20 %ig gewählt.

1. Versuch: Ein Frosch von 65 g erhielt eine Emulsion, entsprechend 0.2 ccm „ganzes" Curcasöl von Gehe, in den Rückenlymphsack. Am folgenden Tage war er noch munter, am dritten Tage schimmerte seine Rückenhaut im hinteren Teile blutig durch, in der Nacht starb er; er lebte somit etwa 60 Stunden nach der Injektion.

Sektion: Viele Ekchymosen in der ganzen Mundhöhle, der Rückenhaut und der Haut der Oberschenkel, spärlicher in der Muskulatur des Rückens. Der Darm unterhalb des Magens stark gerötet, ohne Blutinhalt.

Das Curcasöl von Gehe erwies sich also als giftig, wenn auch nicht so stark wie Crotonöl. Immerhin erzeugte es aber typische Sektionsergebnisse. Das verwandte Öl zeigte eine saure Reaktion, die von freien Fettsäuren herrührte; ob diese freien Fettsäuren aber das Wirksame waren, erschien fraglich. Im Polarisationsapparat zeigte es sich optisch inaktiv, im Gegensatz zu Croton- und Rizinusöl, von denen das erste + 14° bis + 16°, das andere + 8.00° bis + 8.50° dreht.[1]) Ohne weiteres löslich war es in Äther, Chloroform, Petroläther, Benzol und heissem Alkohol, und zwar in jedem Verhältnis. Ganz anders dagegen verhielt es sich gegen Alkohol bei Zimmertemperatur, und dies Verhalten erklärte auch die wechselvollen Angaben über seine Alkohollöslichkeit in der Literatur. Schon Nimmo[2]) stellte fest, dass nur ein Teil des Öles alkohollöslich sei, der Rest sei terpentinöllöslich, und der erste Teil sollte einen scharfen Stoff (Tiglin) enthalten. Bei Geissler-Möller[3]) wird es als kaum in Weingeist löslich bezeichnet. Ich machte folgenden Versuch: 40 ccm Curcasöl wurden mit Alkohol (96 %) auf 165 ccm aufgefüllt und mehrmals kräftig durchgeschüttelt. Nach mehreren Stunden hatte sich der grösste Teil des Öles zu Boden gesetzt, nur 5 ccm waren in Lösung gegangen. Der Alkohol wurde nun abpipettiert,

---

[1]) K. Plücker, Die Ursache der Giftigkeit der Mohrschen Margarine „Backa", „Luisa", und „frischer Mohr" (Sonderabdruck aus Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel. 21. Band, S. 258 ff).

[2]) Strumpf, l. c.

[3]) Geissler-Möller, Realenzyklopädie der ges. Pharmazie, 1. Auflage, Band III, S. 347. In der 2. Auflage fehlt diese Angabe.

das unlöslich gebliebene Öl nochmals mit derselben Menge Alkohol geschüttelt, wobei wieder fast 5 ccm sie lösten. Wieder wurde der Alkohol abpipettiert, und beide Alkoholportionen nun aufs Wasserbad gestellt. Nach Verdunsten blieb ein Öl zurück, das wie das Ausgangsöl saure Reaktion zeigte, kratzend roch und schmeckte, aber in der Kälte allmählich unter Ausscheidung von Fettkristallen erstarrte. Dagegen hatte das vom alkohollöslichen Teile befreite Öl seine saure Reaktion und den typischen Geruch verloren. Von beiden Ölpartien wurden nun 20 %ige Emulsionen hergestellt und Fröschen eingespritzt:

2. Versuch. Frosch von 60 g erhielt 1 ccm emulgiertes, ausgeschütteltes, also alkoholunlösliches Öl. Er wurde 6 Tage lang beobachtet und zeigte keine Änderung seines Befindens.

3. Versuch. Ein Frosch von 60 g erhielt 1 ccm Emulsion des alkohollöslichen Curcasölanteils in den Rückenlymphsack. Nach etwa 40 Stunden lag er noch schwach atmend auf dem Rücken, um 4 Stunden später keine Lebensäusserungen mehr zu zeigen.

Sektion: Das Herz schlug noch langsam. Einige kleine Ekchymosen in der Muskulatur der Oberschenkel; der Darmtraktus unterhalb des Magens entzündet.

4. Versuch. Ein Frosch von 82 g hatte dieselbe Dosis wie der vorige bekommen; nach 25 Stunden waren Blutungen in der Rückenhaut zu sehen, nach 60 Stunden war er tot. Die

Sektion gab ein typisches Bild: Ekchymosen am Gaumen, in der Schenkelmuskulatur und Rückenhaut. Lymphsack voll Blut; Magen voll Blut, aber intakt, Darm gerötet.

Diese Versuche zeigten also, dass man durch blosse Alkoholbehandlung das Curcasöl in einen ungiftigen unlöslichen, und einen giftigen löslichen Teil zerlegen kann, ein Verhalten, das es mit dem Crotonöl teilt. Indessen ist diese Zerlegung nur relativ, wie folgende Versuchsanordnung zeigt:

1. 225 ccm Curcasöl wurden geschüttelt mit 300 ccm 96 %igem Alkohol; es lösten sich 25 ccm. Die zurückbleibenden
2. 200 ccm wurden mit abermals 300 ccm Alkohol geschüttelt, es lösten sich 21 ccm;
3. die 179 ccm gaben an die folgenden 300 ccm Alkohol 12 ccm ab,
4. die 167 ccm an die nächsten 300 ccm Alkohol 10 ccm, von den restlichen
5. 157 ccm lösten sich in weiteren 300 ccm Alkohol 5 ccm, und von den
6. 152 ccm abermals 5 ccm.

Die einzelnen gelösten Ölportionen wurden durch Destillation vom Alkohol befreit, und dabei zeigte sich in der Kälte die

I. Fraktion vollkommen fest, die

II. Fraktion auch, war aber etwas klarer, in der

III. Fraktion schwammen in klargelbem Öle einzelne Rosetten von kleinen Kristallen, die

IV. und V. Fraktion war klar gelb und sah dem übrig gebliebenen Öle durchaus ähnlich. An Fröschen wurde II und IV geprüft.

5. Versuch. Einem Frosch von 65 g wurden 0.2 ccm der II. Fraktion als Schüttelemulsion mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Nach 44 Stunden war er verendet und zeigte den typischen Sektionsbefund: Ekchymosen im Maul, Magen prall voll Blut, aber intakt, Ekchymosen im Eileiter.

6. Versuch. Ein Frosch von 70 g erhielt 0.25 ccm der IV. Fraktion als Schüttelemulsion in den Lymphsack. Er blieb munter und zeigte nach 4 Tagen keinerlei Veränderung.

Von der IV. Fraktion an, das heisst von dem Moment an wo das Lösungsverhältnis des Öles beim Ausschütteln mit Alkohol konstant (1 : 60) wurde, war das Gift also verschwunden. Die giftige Fettsäure oder deren Glycerid oder beide sind also in Alkohol recht leicht löslich.

Es fragte sich nun, ob die Fette, die die ersten beiden Fraktionen erstarren liessen, etwa Träger der Giftigkeit wären. Ich löste also die ersten drei Fraktionen in möglichst wenig Alkohol und beliess diese Lösung einige Zeit in einer Kältemischung. Wirklich fiel auch ein grosser Teil von Fettkristallen — Nadeln rosettenartig angeordnet — aus und konnte vermittelst eines gekühlten Trichters von dem flüssigen Rest getrennt werden. Um ihn möglichst rein zu bekommen, löste ich den Filterrückstand in Alkohol und kühlte nochmals, wobei der grösste Teil der Kristalle wieder ausfiel und nun endgültig auf gekühltem Filter gewonnen wurde. Es genügte stets die Temperatur des schmelzenden Eises.

Bei den nun angestellten Froschversuchen zeigte sich aber, dass den gewonnenen Kristallen jede Giftigkeit abging, während das Filtrat unverändert wirkte.

7. Versuch. Einem Frosch wurden im Abstand von 4 Stunden die Fettkristalle (etwa in der Menge einer Erbse) in ganz schwach mit Soda alkalisch gemachter phys. Kochsalzlösung eingespritzt. Nachdem er 4 Tage keine Symptome gezeigt hatte, wurde er getötet, aber irgend etwas von Ekchymosen liess sich nicht finden.

In schwach alkalischer Kochsalzlösung liessen sich die Fettkristalle leichter in der Wärme verteilen, da ja ein Teil verseift wurde.

8. Versuch. Ein Frosch von 50 g erhielt von dem Öl, aus dem die Fettkristalle ausgefällt waren, nach Abdunsten des Alkohols 0.2 ccm als Schüttelemulsion in den Lymphsack. Nach 15 Stunden war er tot und zeigte bei der

Sektion eine Ekchymose im Mundwinkel, mit flüssigem Blut bedeckt, von der aus der ganze Magen und Darm mit verschlucktem Blut gefüllt war. Auch der Eileiter trug einige Blutungen.

Damit war bewiesen, dass die Fettkristalle ungiftig waren, das Gift sich also auf diesem physikalischen Weg nicht isolieren liess. Ich gehe wohl nicht fehl, wenn ich das leicht zu isolierende feste Fett als die Isoceticsäure Bonis anspreche, die oben erwähnt wurde. Diese wurde von einigen als ein Gemisch von Palmitin- und Myristinsäure erklärt.[1]) KLEIN allerdings konnte Myristinsäure nicht nachweisen,[2]) nach ihm wäre die feste Säure ein Gemisch von Stearin- und Palmitinsäure. In beiden Fällen wäre natürlich keine Giftigkeit zu erwarten.

c) Darstellung der Curcanolsäure.

Eingehende Zerlegung des Curcasöles in verschiedene Fraktionen hat SIEGEL[3]) schon vorgenommen. Er wandte eine Verseifung mit Kalilauge an und fällte einzelne Fraktionen durch Zusatz von Barytlösung. Aus den Fraktionen entfernte er den Baryt durch Waschen mit verdünnter Salzsäure und erhielt so fünf verschiedene, aber nicht scharf getrennte Fraktionen. Nach der chemischen Analyse der einzelnen Fette kam er zu dem schon erwähnten Resultat: Die Fettsäuren des Curcasöles sind Palmitin-, Myristin- und eine hypothetische Curcanolsäure. Leider hat SIEGEL keine Versuche an Tieren mit seinen Fraktionen ausgeführt, und ein harzartiger Körper von bitterem Geschmack, in Äther unlöslich, in Alkohol löslich, wird von ihm zwar erwähnt, kann aber, wie meine Versuche später zeigen werden, nicht als das wirksame Gift angesehen werden.

---

[1]) GEISSLER-MÖLLER, Realenzyklopädie der gesamten Pharmazie, erste Auflage unter „Jatrophaöl".

[2]) O. KLEIN, Über das Curcasöl. Zeitschrift für angewandte Chemie 1898, S. 1012—1015.

[3]) SIEGEL l. c.

Für die Darstellung der Crotonolsäure hat nun Hirschheydt unter Kobert eine Methode angewandt, die zwar von Chemikern nicht recht anerkannt worden ist, die aber zum mindesten sehr geeignet ist, das giftige Prinzip weitgehend einzuengen. Erstmalig veröffentlicht wurden diese Verfahren von Prof. Kobert 1887, und ich gebe es im folgenden wieder, wörtlich nach Hirschheydt.[1]) „Der in Alkohol leicht lösliche Teil des Crotonöls wird mit heissgesättigter Barytlösung im Überschuss auf dem Wasserbade einige Zeit innig verrührt. Bei 50 ccm Substanz genügt dazu, falls man energisch rührt, $^1/_2$ Stunde. Es bildet sich dabei ein weisser, steifer Brei, der mit kaltem, destilliertem Wasser anhaltend verrührt und durch Dekantieren gewaschen wird, indem der überschüssige Baryt, Farbstoffe und die in Wasser löslichen Verbindungen der Essigsäure, Buttersäure und Tiglinsäure mit Barium dabei entfernt werden. Dann bringt man den Brei auf ein Filter, wäscht von neuem, lässt das Wasser abtropfen, entfernt die letzten Reste durch Erwärmen im Vakuum und verreibt die steife Masse mit Äther zu wiederholten Malen. Dabei bleiben die Barytsalze der Stearin-, Palmitin- und Laurinsäure ungelöst, während ölsaures und crotonolsaures Barium in Lösung gehen und nach Verdunsten des abfiltrierten Äthers als gelbe halbflüssige Seife quantitativ gewonnen werden. Diese Seifenmasse behandelt man mit Alcohol absolutus, wobei der crotonolsaure Baryt sich löst, der ölsaure aber nicht. Aus der alkoholischen Lösung wird der Baryt durch vorsichtigen Zusatz von H_2SO_4 ausgefällt und das Filtrat, welches die Crotonolsäure enthält, verdunstet.“ Nach dieser Vorschrift ist sämtliche Crotonolsäure dargestellt worden, welche die Firma E. Merck in den Handel gebracht hat.

Bei der Verwandtschaft der Stammpflanzen, der weitgehenden Ähnlichkeit der Öle und besonders dem gleichen Verhalten der beiderseitigen wirksamen Stoffe gegen Alkohol lag es nahe, obiges Verfahren auf Curcasöl anzuwenden.

Zu diesem Behufe wurden 1000 ccm Curcasöl mit 3000 ccm Alkohol versetzt, geschüttelt und dann absitzen lassen. Nach dem Abdestillieren des Alkohols wurden 150 ccm darin gelöst gewesenes Öl erhalten. Der Rest des Curcasöles wurde abermals

[1]) Hirschheydt, Über die Crotonolsäure Buchheims, Dorpater Arbeiten, herausgegeben von R. Kobert, Band 4, 1890, S. 30 f.

mit 3000 ccm Alkohol geschüttelt, wobei bedeutend weniger, 30 ccm, in Lösung gingen. Auch diese wurden vom Alkohol durch Destillation befreit. Alle drei Ölportionen wurden auf ihre Giftigkeit geprüft.

1. Versuch. Ein Frosch von 55 g erhielt 0.2 ccm des zweimal durch Ausschütteln gereinigten Öles als Schüttelemulsion in den Lymphsack. Er blieb 5 Tage lang gänzlich gesund.

2. Versuch. Ein Frosch von 60 g erhielt 0.2 ccm der beim ersten Ausschütteln gelösten Ölportion. Nach 36 Stunden zeigte er Blutextravasate in der Rückenhaut. Nach 66 Stunden war er tot.

Sektion: Ekchymosen am Gaumen, Magen voll blutigen Schleims. Darm gerötet.

3. Versuch. Ein Frosch von 60 g erhielt 0.2 ccm der beim zweiten Ausschütteln gewonnenen Ölportion. Er hatte nach 36 Stunden blutig verfärbte Rückenhaut; nach 88 Stunden war er tot.

Sektion: Kleine und grosse Ekchymosen im Maul. Rücken- und Schenkelmuskulatur mit kleinen Blutungen. Magen bei intakter Wand mit blutigem Schleim gefüllt, ebenso Rectum.

Das zweimal mit Alkohol ausgeschüttelte Öl war also entgiftet; das Gift war in den beiden mit Alkohol gelösten Fraktionen enthalten, in der ersten vielleicht etwas mehr als in der zweiten. Die beiden Fraktionen wurden zusammen nun genau nach der oben gegebenen Vorschrift verseift. Die Barytvergiftungen bildeten sich sehr rasch, ein Teil des gelben Farbstoffes ging nicht in sie über, sie waren also nach dem Auswaschen und Trocknen, das allerdings nicht im Vakuum geschah, eine fast weisse, bröckelnde Masse. Diese wurde nun mit Äther tüchtig verrührt und verteilte sich recht fein in demselben. Nach Abdestillieren des Äthers zeigte sich, dass 45 ccm Seife in Lösung gegangen waren, die als dickflüssige, gelbbraune Masse gewonnen wurde; 200 ccm Alcohol absolutus vermochten hiervon 15 ccm zu lösen, der Rest erwies sich als unlöslich. Der klaren Alkohollösung wurden nun in der Wärme so lange tropfenweise alkoholische Schwefelsäure zugesetzt, bis kein typisches Ausfallen von Bariumsulfat mehr erfolgte. Hierbei fielen schon einige ölige Tropfen aus, der Rest der vom Barium befreiten Fettsäure wurde nach Filtrieren und Neutralisieren der Alkohollösung durch Abdunsten gewonnen. Es ergaben sich so 12 ccm einer hellgelben, öligen Flüssigkeit, die bei etwa 10° C. zu einer Gallerte erstarrte und sich sehr leicht in Ather löste.

Diese Fettsäure zeigte also dasselbe Verhalten wie die von HIRSCHHEYDT dargestellte Crotonolsäure,

und wenn sie sich nun noch als giftig bewährte, konnte man sie wohl mit Recht als Curcanolsäure ansprechen.

4. Versuch. Ein Frosch erhielt abends 0.05 g in Gummi arabicum-Emulsion, am anderen Morgen, als noch keine sichtbare Wirkung eingetreten war, nochmals 0.1 g der Fettsäure. Abends sass er schon in einer grossen Blutlache, die aus seinem Maule stammte. Am folgenden Morgen atmete er nicht mehr; mittags strömte ihm abermals viel Blut aus dem Maule, und nachmittags, 45 Stunden nach der ersten Injektion, war er tot.

Sektion: Aus dem Maule entleerte sich noch Blut, die ganze Schleimhaut des Rachens und Ösophagus war mit Ekchymosen besät, die an der Cardia wie abgeschnitten aufhörten. Der gesamte Darmtraktus war mit Blut gefüllt, ebenso der Rückenlymphsack.

Es waren also ausserordentlich heftige Erscheinungen aufgetreten; der zeitliche Ablauf der Vergiftung entsprach allerdings nicht ganz der gegebenen Menge, die doch immerhin der 15-fachen Menge in Alkohol löslichen Curcasöles entsprechen musste. Einen Teil der Schuld trug hieran das Gummi arabicum, das als Mucilaginosum ja resorptionshemmend wirken muss. Ausserdem war beim Übergang vom rohen Curcasöl zum alkoholischen Curcasöl trotz grösserer Konzentration des Giftes in letzterem keine Beschleunigung des Ablaufs der Vergiftung zu bemerken, wohl weil die Resorption an und für sich langsam vor sich ging.

Jedenfalls aber waren die Erscheinungen ausserordentlich heftig, auch bei wiederholten Versuchen; man kann daher in der gewonnenen Fettsäure wohl das wirksame Prinzip des Curcasöles, die Curcanolsäure, sehen.

Die Curcanolsäure wurde nun auch noch auf ihre Wirkung auf Warmblüter untersucht:

Einem Kaninchen wurden 0.2 ccm Curcanolsäure in Gummiemulsion (2 ccm) unter die Haut gespritzt. Es trat keine Wirkung ein, das Tier frass ruhig; Urin zeigte kein Eiweiss oder Zucker. Eine Injektion (nach 3 Tagen) von rohem Curcasöl in 50 % Emulsion und einer Menge von 8 ccm erzeugte eine lokale Empfindlichkeit, die ohne Allgemeinerscheinungen nach 2 Tagen vorüber ging.

Einreiben einiger Tropfen Curcasöl oder auch Curcanolsäure in die Haut des Vorderarmes beim Menschen erzeugte keine Reizung. Diese Tatsachen trennen das Curcasöl vom Crotonöl, das ja ausserordentlich heftig lokal reizt.

Endlich möchte ich an dieser Stelle noch einmal auf die Versuche kommen, die Lippmann[1]) in Hamburg gestellt hat, und von denen schon die Rede war. Dass Meerschweinchen und

[1]) Lippmann, l. c.

Kaninchen durch Curcassamen nicht irritiert wurden, ist schon unter „Curcin“ angegeben und an derselben Stelle schon der Unempfindlichkeit dieser Tiere gegen andere giftige Fette Erwähnung getan, die für Kaninchen nach meinen eben berichteten Versuchen auch bei subkutaner Applikation gilt. Zur Ergänzung mögen folgende Hundeversuche angeführt werden, die LIPPMANN mitteilt:

Ein Hund von 6.5 kg bekommt nüchtern 5 g gut zermahlene und in Wasser emulgierte Curcasnüsse. Nach 30 Minuten setzt fünfmaliges Erbrechen ein (stark alkalisch). Sonst erfolgte nichts.

Am nächsten Tage erhält er 20 g Nüsse zermahlen mit Fleisch. Darauf erfolgt 20 Minuten später 30 Minuten anhaltendes Erbrechen. Kein Durchfall. Dann Wohlbefinden.

Bei diesen Versuchen ist als brechenerregendes Gift das Curcasöl anzusprechen, und bei den leicht brechenden Hunden erfolgt der Vorgang so prompt und gründlich, dass Darm- und Allgemeinerscheinungen ausbleiben. Worauf andererseits die Unempfänglichkeit der Meerschweinchen und Kaninchen beruht, ist nicht zu sagen; Pflanzenfresser scheinen eben diese Art Gifte besser zu vertragen.

IV. Über die Prüfung anderer giftiger Fette an Fröschen.

Da sich Frösche, von denen zunächst Temperarien verwandt wurden, als ausserordentlich geeignete Versuchstiere bewährt hatten, lag es nahe, auch andere giftige Fette in ihrer Wirkung auf diese Tiere zu untersuchen. Als aktuelles Material stand mir durch die Güte des Herrn Geheimrat PFEIFFER eine Portion der berüchtigten giftigen Backa-Magarine, Marke Luisa, mit sogen. Cardamonfett hergestellt, zur Verfügung. 10 g dieser Margarine wurden mit 140 ccm Alkohol geschüttelt, wobei sich 4 ccm lösten und als dickflüssiges Öl gewonnen wurden. Eine Emulsion von dieser Substanz diente zu folgenden Versuchen.

1. Versuch. Ein Frosch erhält 0.3 ccm Substanz eingespritzt. Es trat keine Wirkung ein.

2. Versuch. Ein Frosch von 60 g erhielt 0.4 ccm der Substanz nicht emulgiert in den Lymphsack. Am folgenden Tage 1 ccm. Nunmehr trat am nächsten Tage eine gewaltige Schwellung des Rückens ein, und nachmittags wurden durch Punktion 9.5 ccm einer milchigen Flüssigkeit aus dem gewaltig gespannten Lymphsack entleert. Das Exudat enthielt einzelne Blutkörperchen, und reichlich Fetttröpfchen. Nach 2 Tagen war der Frosch tot. Die

Sektion ergab keine typischen Veränderungen. 1 cm unterhalb des Pylorus befand sich etwas Blut auf der geröteten Darmschleimhaut. Keine Ekchymosen. Im Lymphsack wieder eine Flüssigkeitsansammlung.

Das gewaltige Exsudat braucht man nicht als spezifische Wirkung auffassen; es kann vielmehr durch die lokale Reizung der durch das Ranzigwerden der Magarine entstandenen Fettsäuren bedingt sein. Um jedenfalls sicher zu gehen, prüfte ich auch das reine Maratti-(Cardamon-)fett.

Als der giftige Bestandteil des Marattifettes ist die Chaulmoograsäure aufzufassen, das sich herausgestellt hat, dass Marattifett mit dem von indischen Hydnocarpusarten stammenden Chaulmoografett indentisch ist.[1]) Durch Prof. Thoms stand mir etwas der von ihm selbst hergestellten Chaulmoograsäure zur Verfügung. Weisse Mäuse sterben nach interner Darreichung von 0.04 g dieser Säure in 1—$1^1/_2$ Stunden.[2])

Um die feinen, weissen Schüppchen Fröschen gut einspritzen zu können, löste ich sie in warmem Olivenöl.

3. Versuch. Einem Frosch wurden 0.1 g Chaulmoograsäure in Olivenöl gelöst in den Lymphsack eingespritzt. Nach acht Tagen war der Frosch unverändert munter.

4. Versuch. Einem Frosch wurde zur Kontrolle 1 ccm Olivenöl eingespritzt. Innerhalb acht Tagen zeigte er keine Veränderungen.

Das Chaulmoografett wirkt also auf Frösche anscheinend gar nicht toxisch, und der letale Ausgang des 2. Versuches mit Backamargarine ist auf die oben schon der lokalen Reizung beschuldigten frei gewordenen Fettsäuren zu schieben. Dieses Ergebnis ist um so bemerkenswerter, als man anfänglich beim Bekanntwerden der Margarinevergiftungen des Jahres 1911 an eine Beimischung von Curcasöl gedacht hat[3]) eben wegen des Ausfalls der Fütterungsversuche an Warmblütern, die stets mit Erbrechen des Genossenen endeten, wenigstens bei Hunden. Die angeführten Versuche an Kaltblütern lassen aber im Gegensatz zu den Warmblüterversuchen Croton- und Curcasöl als zu einer anders konstituierten giftigen Fettgruppe gehörig erkennen als Chaulmoograsäure.

Trotz des negativen Ausfalles der Versuche mit Chaulmoograsäure an Fröschen wäre es aber doch empfehlenswert, bei einer etwaigen Prüfung von unbekannten Ölen oder Fetten auf ihre Verwertung zu Nahrungsmitteln sie Kaltblütern, Fröschen, einzuspritzen.

---

[1]) H. Thoms und F. Müller, l. c.

[2]) Dieselben, l. c.

[3]) W. Bücher, „Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genussmittel", 21. Bd., S. 262.

V. Durch Jatropha Curcas herbeigeführte Vergiftungen von Menschen und Haustieren.

1. MARQUIS BOUFFLERS bekam nach 8—10 Brechnüssen (Curcasnüssen) Brechdurchfall.

2. In Dublin erkrankten 1859 über hundert Rinder, die von den Samen, die aus einem zu Boden gefallenen und aufgerissenen Sack gefallen waren, genascht hatten.

3. Ein Student in Dorpat ass 15—20 Curcassamen, die er nicht kannte, und die ihm nach seiner Aussage gut geschmeckt halben sollen. Nach einer halben Stunde setzte starkes Erbrechen ein, das sich 15mal in einer Stunde wiederholte und zuletzt blutig wurde, dann traten nicht blutige Durchfälle ein. Das Brechen und Magenspülungen schaffte Linderung Der Patient fühlte sich zerschlagen und hatte am andern Tage das Gefühl eines Katzenjammers.[1])

4. In einem Fall wurden 5 Samen genossen, worauf Brennen in Mund und Kehle eintrat, der Leib schmerzte; nach einigen Minuten trat Erbrechen ein, das sich fünfmal wiederholte in einer Stunde. Darauf erfolgte Durchfall, aber der Schmerz wurde nicht gelindert; der Patient fühlte sich zerschlagen. Bald traten Delirien und Ohnmacht ein, und als nach einigen Stunden das Bewusstsein wiederkehrte, war das Gesicht blass, der Puls war schwach, 110 pro Minute, die Hände waren kalt. Patient genas.[2])

5. 1854 erkrankten in Birmingham mehr als dreissig Kinder unter den eben angeführten Symptomen nach dem Genuss von Curcassamen. Dazu kam noch Schläfrigkeit, wohl durch die Erschöpfung.[2])

6. Vergiftung eines Rindes:[3]) Bei einem Rind sah WOLFF nach Fressen von Curcassamen Schlingbeschwerden auftreten, ferner kolikähnliche Anfälle, Durchfall, Anurie und subnormale Körpertemperatur; die Lektion ergab hämorrhagische Entzündung im Labmagen und Dünndarm mit Ekchymosen und Geschwürsbildung.

---

[1]) 1—3 nach KOBERT, Lehrbuch der Intoxikationen II, S. 550.

[2]) W. DYMOCK, The vegetable Materia medica of Western India 1885 pag. 694.

[3]) FRÖHNER, Toxikologie für Tierärzte, 2. Auflage, 1901, S. 276.

7. Ferner sah LEONHARD bei 28 Läuferschweinen Kolik, Erbrechen, Diarrhöe und unstillbaren Durst; 12 Schweine krepierten, nachdem blutige Durchfälle eingetreten waren.[1])

8. und 9. Zum Schluss führe ich noch zwei Vergiftungsfälle an, die in der I. medizinischen Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg zu Hamburg beobachtet worden sind.[2]) Weil es die neuesten und bestbeobachteten Fälle sind, gebe ich sie z. T. wortgetreu wieder.

Auf dem Lagerboden des Männerheims der Heilsarmee waren am 18. Oktober 1912 mehrere Männer damit beschäftigt, Bodenabfälle und Lumpen zu sortieren. Bei dieser Gelegenheit fielen ihnen vier Pfund „amerikanische Nüsse", re vera Curcasnüsse, in die Hände, die sie fast alle verzehrten. Nach kurzer Zeit trat bei allen Brennen im Schlunde auf, nebst leichter Übelkeit, die bald zum Erbrechen führte. Dann kamen Durchfälle hinzu, am Abend waren die meisten aber wieder wohl; nur zwei, die wohl besonders zugegriffen hatten, erkrankten schwerer. Deren Krankengeschichten lasse ich wörtlich folgen:

I. Arbeiter, 41 Jahre alt, hat Malaria und Gonorrhöe. Ass am 18. Oktober 1912 7 Uhr morgens zwei Hände voll „amerikanischer Nüsse", die ihm wie Haselnüsse schmeckten. Um 8 Uhr brennen im Hals und in der Brust, und ihm wurde übel. Es trat erst Durchfall, dann auch Erbrechen auf. Bald blieb der Durchfall und das Erbrechen gleich stark bestehen. Unter heftigsten kolikartigen Bauchschmerzen verschlimmerte sich der Zustand. Gegen 10 Uhr traten ausserordentlich heftige Wadenkrämpfe auf, um 10^{15} Uhr wurde er ins Krankenhaus eingeliefert.

Befund: Drei Stunden nach Essen der Nüsse. Mittelgrosser kräftig gebauter Mann, in gutem Ernährungszustand. Gewicht 70 kg, bei 170 cm Länge. Er macht einen sehr schweren Krankheitseindruck, sieht blass und verfallen aus. Die Haut ist trocken, lässt sich in grossen Falten abheben und bleibt lange so stehen. Heftige Klagen über Brennen im Hals und in in der Brust, dabei starker Durst. Es bestehen starke Wadenkrämpfe und dabei Schmerzen in der ganzen Unterschenkelmuskulatur.

Nervensystem: Cornealreflex stark herabgesetzt, Pupillen reagieren langsam, alle übrigen Reflexe schwach, nur Achillessehnen- und Bauchdeckenreflexe nicht auslösbar. Es besteht ein Tetanus im rechten Quadriceps, beiderseits bestehen in der Wadenmuskulatur fibrilläre Zuckungen. Die Berührung der kontrahierten Muskulatur ist äusserst schmerzhaft. Mundschleimhaut nicht gereizt, blass. Muskulatur des Mundbodens in tonischer Kontraktion, die bald schwindet. Atmung oberflächlich und sehr frequent. Herztöne

---

[1]) FRÖHNER, l. c.

[2]) LIPPMANN, Zwei Fälle von schwerer Vergiftung durch Curcasnüsse. Med. Klinik Jahrg. 9, 1913, No. 13, S. 500.

rein, regelmässig, keine Verbreiterung. Puls von sehr geringer Spannung und Füllung, Frequenz 90; Achseltemperatur 34.5 °. Der Leib erscheint sehr leer, die Därme sind zusammengesunken. Es werden dauernd reichliche, weisse, flockige Stühle entlehrt, die wie dünne Mehlsuppe aussehen. Alles Getrunkene wird erbrochen; Urin nicht vorhanden.

Verlauf: Unter reichlichen Kampfer- und Coffeingaben ändert sich das Befinden nicht. Das Erbrechen hält an, die Durchfälle kommen nicht zum Stehen. Es treten Gesichtstäuschungen und Benommenheit auf. Zwischendurch wird Patient klar und klagt über heftige Schmerzen von seinen Muskelkrämpfen. Der Puls ist kaum fühlbar. Die Prognose ist absolut schlecht. Subkutane Kochsalzinfusion wirkt nicht. Eine Änderung im Befinden wird herbeigeführt durch intravenöse Gabe von 1 mg Strophanthin (Boehringer) und unter sofortigem Anschliessen einer intravenösen Kochsalzinfusion (1.5 l). Noch während der Infusion verschwinden die Wadenkrämpfe und Patient selbst erholt sich fast momentan. Nach zwei Stunden liest er schon wieder „Sherlock Holmes". Um 6 Uhr ist die Temperatur noch 35 °, abends 10 Uhr wieder normal 37 °. Einzige Beschwerden: Brennen in der Brust.

Am 19. Oktober 1912 ist nichts krankhaftes mehr zu finden. Subjektiv: Etwas Brennen in der Brust und Ziehen in den Waden. Der Urin ist normal. Unter vorsichtiger Kost erholt sich Patient in den nächsten Tagen schnell und verlässt am 28. Oktober vollständig gekräftigt das Krankenhaus.

II. Arbeiter A. B., 24 Jahre alt, ziemlich mager (48 kg bei 150 cm Länge) früher ausser einer durchgemachten Lungenentzündung stets gesund gewesen, hat ebenfalls um $6^3/_4$ Uhr morgens 30—40 von den Nüssen gegessen. 7^{05} Uhr trat heftiger Schwindel und allgemeine Schwäche auf, dann Durchfall und Erbrechen, die seitdem ohne Pause anhalten. Es traten heftige Leibschmerzen und Brennen in der Brust auf, das Atmen wurde ihm schwer. Befund: $12^3/_4$ Uhr: Sehr elender, unterernährter Mann, schwerer Krankheitseindruck. Temperatur 35.7 °. Puls 76, sehr klein. Dauernd reiswasserartige Durchfälle und heftiges Erbrechen. Reflexe normal, auch sonst kein Organbefund. Heftige Leibschmerzen, leichte Wadenkrämpfe.

Verlauf: Unter reichlichen Flüssigkeitsgaben bessert sich das Befinden bald. Auf Bitterwasser erfolgen noch einige Stühle. Die Leibschmerzen halten noch ziemlich lange an und sind erst am 21. Oktober ganz verschwunden. Es bleibt eine leichte Verstopfung zurück. Urin immer normal. Am 28. vollkommen geheilt entlassen.

Bei diesen beiden letzten, so gut beobachteten Vergiftungsfällen stösst einem wohl die Frage auf, ob das Krankheitsbild nur durch das Curcin oder durch das Öl, oder durch beides hervorgerufen ist. Wenn man die Vorgeschichte der Krankheit nicht gekannt hätte, so würde man unbedingt zuerst einen starken Verdacht auf Cholera gehabt haben. Profuse Diarrhöen, Erbrechen, Wadenkrämpfe müssen einen hierauf bringen, und subnormale Hauttemperatur[1]) (bis unter 35 ° C.!) wird ebenfalls trotz

[1]) STRÜMPEL, Spez. Pathologie und Therapie, Bd. I, S. 110.

des Fiebers beobachtet. Aber auch die einfache Cholera nostras geht mit Wadenkrämpfen einher; auch bei ihr kann die Haut kühl sein, und so lassen sich die Symptome sicher allein durch die kolossale Entwässerung des Körpers, die durch das dauernde Erbrechen und die Durchfälle herbeigeführt wurde, erklären. Diese Auffassung dürfte weiter durch den ausserordentlich prompten Erfolg der Therapie — Flüssigkeitszufuhr — gestützt werden.

Die aufgenommene Dosis dürfte bei einem Gewicht von 0.6 g pro Samen und vielleicht 25 „Nüssen" auf eine Handvoll 30 g im ersten Falle betragen haben, d. h. auf Curcin bezogen, die subkutan letale Dosis für 10 kg Kaninchen. Nach der Auffassung, die ich oben ausgesprochen habe, wird das Curcin aber schon im Magen zum grössten Teil zerstört, und da die in 30 g Curcassamen enthaltenen 10 g Curcasöl die Diarrhöe mit dem Erbrechen wohl genügend erklären dürften, da Siegel durch 8 Tropfen schon entsprechend heftige Symptome verspürte, so braucht man das Curcin gar nicht heranzuziehen.

Zusammenfassung: Die Curcassamen enthalten

1. ein giftiges Agens, wohl ein Toxalbumin, das Curcin, welches Blutkörperchen in vitro nicht beeinflusst, aber in vivo die Blutgefässe schädigt und wahrscheinlich vor allem durch Verankerung in wichtigen Hirnzentren — wie Rizin — toxisch wirkt;
2. das Curcasöl. Dieses verdankt seine giftigen Eigenschaften der der Crotonolsäure analog darstellbaren Curcanolsäure. Vermöge seines Gehaltes an letzterer gehört es zu den stärksten drastischen Stoffen, und bei einer internen Aufnahme von Curcassamen steht die durch die Curcanolsäure erzeugte Gastroenteritis, die sowohl Menschen als Haustiere betreffen würde, mit ihren Folgen im Vordergrund.

Das Curcin dürfte bei seiner ausserordentlichen Empfindlichkeit im Darme gänzlich zerstört und seine Resorption auf diesem Wege dadurch verhindert werden.

Zum Schluss sei es mir gestattet, Herrn Geheimrat Kobert für die Überweisung des vorliegenden Themas und die mir in so reichem Maſse zuteil gewordene liebenswürdige Unterstützung meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen.

Alphabetisches Register.

Druck von Fr. Stollberg, Merseburg.