

# Kleine Mitteilungen.

Von

**R. Kobert.**

---

Sonderabdruck aus der „Chemiker-Zeitung“  
1916, Nr. 129, S. 901.

---

Cöthen (Anhalt).

Verlag der Chemiker-Zeitung Otto v. Falen  
1916

I

Dv - 1987

UNIVERSITÄTSBIBLIOTHEK  
- Medizinische Abt. -  
DÜSSELDORF  
V 2077

## Kleine Mitteilungen.

(Aus dem Institute für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock.)

Von R. Kobert.

**I** **Über den Knollenblätterschwamm.** Wohl infolge der langanhaltenden feuchten Witterung ist der Knollenblätterschwamm, *Amanita phalloides*, in diesem Jahre, wenigstens in der Rostocker Gegend, in den Wäldern so zahlreich zu finden wie noch nie. Trotzdem es in den Oktobernächten doch recht kühl geworden ist, schießen noch immer (am 6. Oktober) neue Exemplare hervor. Ich habe diese in den letzten Monaten von neuem zu klassifizieren versucht und muß dabei bleiben, was ich immer schon behauptet habe, daß ein dem großen Publikum in die Hände gegebenes Pilzbuch oder Pilzmerkblatt, welches nur eine der vorkommenden Formen abbildet, mehr schadet als nützt, weil das Publikum daraus immer den Schluß ziehen wird, daß ein mit der Abbildung nicht identischer Pilz unmöglich der Knollenblätterschwamm sein könne. Ich habe in der vierten Auflage von EULENBURGS Realencyklopädie der Medizin, Bd. I (Berlin-Wien 1907) S. 382, unter dem Stichwort *Amanita phalloides* sieben Varietäten dieses Pilzes farbig abgebildet.

Als hier bei uns in Rostocks Umgebung in diesem Jahre besonders häufig führe ich an 1. eine ganz farblose und warzenlose Form, also rein weiß; 2. eine Form mit grünem warzenlosen Hute und weißem oder leicht grünlichem Stengel; 3. eine Form mit gelblichem Hut und weißen oder dunkleren Warzen; 4. eine Form mit ganz schwach grünlichem Hut und weißen oder bräunlichen Warzen. Der Stiel ist bei allen Formen meist solid. Viele Jahre lang habe ich hier gar keine hohlen Stiele gefunden; in diesem Jahre aber wohl, allerdings nur vereinzelt. Die Knolle ist stets typisch entwickelt. Die Lamellen sind niemals rötlich, sondern rein weiß. Der Geruch erinnert an rohe Kartoffeln, nie an bittere Mandeln oder Anis. Der Geschmack ist keineswegs unangenehm. In den ersten Tagen des September hatte ich in einer hier stattfindenden Tagung des AUSSCHUSSES FÜR DIE FÖRDERUNG DER HYGIENISCHEN EINRICHTUNGEN IN DEN KURORTEN mich etwa folgendermaßen ausgesprochen: »Da der Krieg uns zwingt, alle Nahrungsmittel, die billig zu haben sind, energisch auszunutzen,

II.

**Über rumänische Kleie.** In der Tagespresse war in den letzten Monaten wiederholt zu lesen, die aus Rumänien vor der Kriegserklärung gegen uns bezogene Kleie sei vergiftet gewesen und habe namentlich den Ausbruch von Rotlauf bei Schweinen veranlaßt. Natürlich waren dies auf Gerüchten beruhende Zeitungsnotizen, die nicht ernst zu nehmen sind. Immerhin machten sie die Landwirte kopscheu und gaben zu zahlreichen Untersuchungen dieses in ungeheuren Mengen hereingekommenen Futtermittels Veranlassung. Mir wurden zwei Proben der von der hiesigen »Futterstelle« aus verteilten Sendung dieser Kleie zur amtlichen Untersuchung auf biologischem Wege übergeben. Zum Vergleich bezog ich von derselben Futterstelle auch hiesige Kleie.

Diese Portion der *hiesigen Kleie* ergab, wie auch schon früher von mir untersuchte Muster von Normalkleie, keinerlei Blutwirkung, mochte ich die Auszüge daraus mit Blut oder mit serumfreien Blutkörperchen in Berührung bringen. Ganz anders war das Verhalten der von hier bezogenen *rumänischen Kleie*. Das gefährlichste Gift, welches in Futtermitteln sich gelegentlich findet, und auf das ich daher zuerst untersuchen mußte, ist das Ricin. Ich habe über die biologische Untersuchung der verschiedenartigsten Futtermittel auf dieses Gift früher<sup>5)</sup> so ausführliche Mitteilungen gemacht, daß ich hier alle technischen Einzelheiten übergangen kann. Der Auszug der Kleie, welcher bei Körpertemperatur mittels physiologischer Kochsalzlösung gewonnen und mittelst Natriumcarbonat ganz schwach alkalisch gemacht worden war, wurde mit Aceton, das auf Eiweißstoffe viel weniger denaturierend als Alkohol wirkt, gefällt, der sich sofort zusammenballende Niederschlag rasch auf Leinwand gesammelt, durch Absaugen von Aceton befreit und in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und filtriert. Diese Lösung mußte alle giftigen und ungiftigen Hämagglutinine, d. h. die Blutkörperchen zum Zusammenballen bringenden Stoffe enthalten. In der Tat wirkte sie schon in Mengen, welche 0,4 g Kleie entsprachen, bei 5 ccm Volumen auf Hammelblutkörperchen sowie bei 0,8 g Kleie auf Meerschweinchenblut binnen 12 Stunden und bei größeren Dosen viel rascher völlig agglutinierend. Auf Kaninchenblutkörperchen wirkten schon 0,2 g Kleie ebenso. Es war also ein Agglutinin vorhanden. Um zu entscheiden, ob es Ricin ist, wurden 3 Wege eingeschlagen. Der erste bestand darin, daß die Kleie mikroskopisch auf Ricinusbestandteile, besonders Schalenreste, geprüft wurde. Solche waren nicht nachweisbar. Der zweite Weg bestand darin, daß die möglichst konzentrierte Agglutininlösung mit 3 Tropfen Antiricin versetzt wurde. Da kein Niederschlag entstand, war auch serologisch die Abwesenheit von Ricin dargetan. Nun wurde drittens noch der toxikologische Beweis erbracht, indem das 3,0 g Kleie entsprechende Agglutinin einem erwachsenen Kaninchen und das 2,0 g entsprechende einem

<sup>5)</sup> R. Kobert, Beiträge zur Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine. In 2 Teilen. Verlag von P. Parey, Berlin 1913. Die auf Kleie bezüglichen Angaben finden sich in Teil 1, S. 40 (Weizenkleie) und S. 44 (Roggenkleie).

kräftigen Meerschweinchen subcutan eingespritzt wurden. Da beide Tiere bei 10-tägiger Beobachtung völlig gesund blieben, ist an Ricin gar nicht zu denken. Es kann sich also nur um ein ungiftiges sogen. Phasin<sup>6)</sup> handeln, d. h. um eine agglutinierende Substanz, wie sie in Schminkbohnen, Saubohnen, Erbsen, Linsen, Wicken usw. vorhanden ist. Verunreinigung der Kleie z. B. durch Wickenbeimischung kann leicht vorkommen.

Die von der Phasinfällung durch Leinwand abgeessene Acetonlösung wurde filtriert und das Aceton abgedunstet sowie der größte Teil des Wassers. Dann wurde nach Zusatz eines Tropfens verdünnter Essigsäure aufgeköcht, um Reste von Eiweiß zu entfernen, filtriert, neutralisiert, mit destilliertem Wasser wieder soweit aufgefüllt, als vorher physiologische Kochsalzlösung vorhanden gewesen war. Diese Flüssigkeit wurde mit Hammelblutkörperchen geprüft und erwies sich als prompt hämolysierend. Es mußte also ein Hämolysin pflanzlichen Ursprungs in dem Filtrat der Phasinfällung vorhanden sein. Da unter den Futterstoffen der Haustiere sich relativ häufig Saponinsubstanzen (*Cucubalus*, *Kornrade*, *Silene inflata*, *Mowrah*, *Shea*) finden, die sämtlich hämolytische Eigenschaften haben, so wurde eine neue Portion der rumänischen Kleie und zwar 50 g am Rückflußkühler mit Methylalkohol ausgeköcht, dieser Auszug noch heiß filtriert, eingengt und mit Äther im Überschuß gefällt. Im Äther bleiben alle Fette und Fettseifen, was nicht unwichtig ist, da ölsaure Alkalien ebenfalls hämolytisch wirken. Der noch mit Äther mehrmals gewaschene Niederschlag mußte sämtliche saure und neutrale Saponine, welche etwa in der Kleie vorhanden gewesen waren, enthalten. Er wurde in 25 cm physiologischer Kochsalzlösung unter Zuhilfenahme einiger Tropfen sehr verdünnter Natriumcarbonatlösung gelöst und filtriert. 1 cm dieser Flüssigkeit entsprach gerade 2 g Kleie. Bei der Prüfung mittels Hammelblutkörperchen ergab sich bei einer Reihe von Gläschen mit je 5 cm Flüssigkeit, die zum Teil durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt worden war, folgendes:

I.	5 cm physiologische Kochsalzlösung	+ 1 Tropfen Hammelblutkörperchen
II.	5 „ entsprechend 10 g Kleie	+ 1 „ „
III.	5 „ „ 5 „ „	+ 1 „ „
IV.	5 „ „ 2 „ „	+ 1 „ „
V.	5 „ „ 1 „ „	+ 1 „ „
VI.	5 „ „ 0,5 g „	+ 1 „ „
VII.	5 „ „ 0,25 g „	+ 1 „ „

In Glas I lagen nach 24 Stunden alle Blutkörperchen ungelöst am Boden, und darüber befand sich eine farblose Flüssigkeitssäule. In Glas II und III erfolgte fast sofort vollständige Hämolysen, in Glas IV erfolgte sie binnen 10 Minuten, in Glas V binnen 4 Stunden, in Glas VI binnen 15 Stunden, und in Glas VII trat selbst binnen 24 Stunden nur teilweise Hämolysen ein. Der Versuch zeigte, daß ein hämolytisch

<sup>6)</sup> Der Name Phasin ist von *Phaseolus* abgeleitet, ist aber Gruppenbezeichnung für alle ungiftigen Agglutinine geworden, da sie alle dem *Phaseolusphasin* ähnlich sind.

wirkendes Prinzip noch in 0,5 g Kleie vorhanden ist und die verwandte Blutkörperchenmenge vollständig auflöst.

Nun wurde der Rest der das hämolytische Prinzip enthaltenden Flüssigkeit mit 2 Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt, wobei eine voluminöse Fällung eintrat, die durch Filtration abgetrennt wurde. Falls es sich um ein saures Saponin handelte, mußte dies sich im Niederschlag befinden; falls um ein neutrales, so mußte es im Filtrat enthalten sein. Beide Teile mußten daher geprüft werden. Das Filtrat wurde neutralisiert und in obiger Weise mittels Hammelblutkörperchen geprüft. Noch die nur 2 g Kleie entsprechende Menge wirkte bei 5 ccm Volumen völlig lösend auf 1 Tropfen Hammelblutkörperchen. Der analoge Versuch mit dem gelösten Filtrerrückstand ergab, daß schon die 1 g Kleie entsprechende Menge rasch völlig lösend wirkte. Es mußte daraus geschlossen werden, daß sowohl ein saures als ein neutrales Saponin vorhanden sind.

Um für die Existenz des neutralen einen zweiten Beweis beizubringen, wurde der Rest der es enthaltenden Lösung nach Zusatz von 1 ccm verdünnter Salzsäure zerkocht. Während die Lösung dabei vor dem Erhitzen klar blieb, wurde sie bei einstündigem Kochen trübe und ließ beim Abkühlen einen Niederschlag fallen, der auf dem Filter gewaschen und in schwach alkalischer Kochsalzlösung gelöst wiederum hämolytisch wirkte. Neutrale Saponine bleiben nämlich in angesäuerter Flüssigkeit gelöst, liefern aber beim Kochen infolge hydrolytischer Zersetzung neben Zucker ein in saurer Lösung in der Kälte ganz unlösliches sauer reagierendes Sapogenin, das in schwach alkalischer Kochsalzlösung neutral sich löst und auch wieder hämolytisch wirkt. Somit hatte also unser neutrales Saponin in der Tat ein wirksames Sapogenin geliefert. Der Zuckernachweis war deshalb nicht beweisend, da Spuren reduzierender Substanz in dem Ätherniederschlag der Methylalkoholaukochen der Kleie präformiert vorhanden sind.

Das saure Saponin war dagegen durch Waschen auf dem Filter leicht zuckerfrei zu machen. Es wurde nun in analoger Weise zerkocht wie das neutrale, wobei es natürlich gleich nach dem Salzsäurezusatz aus der Lösung ausfiel. Man kann daher beim Kochen nicht sehen, ob sich ein Sapogenin bildet. Nachdem eine Stunde im Wasserbade gekocht worden war, wurde abgekühlt, filtriert und das alkalisch gemachte Filtrat mittelst FEHLINGScher Lösung geprüft. Es wirkte stark reduzierend. Damit war die hydrolytische Abspaltung eines Zuckers nachgewiesen. Der Filtrerrückstand konnte jetzt nicht mehr aus unverändertem saurem Saponin bestehen, sondern mußte zum mindesten aus einem Gemisch von Saponin und Sapogenin bestehen oder nur Sapogenin enthalten. Er wurde in analoger Weise wie das Sapogenin des neutralen Saponins gelöst und geprüft. Er wirkte energisch hämolytisch.

Somit ist erwiesen, daß in der von der Rostocker Futterstelle bezogenen Rumänischen Kleie neben einem ungiftigen Agglutinin (Phasin) zwei hämolytisch wirkende Saponine, ein saures und ein neutrales, enthalten sind. Da das saure Saponin sich relativ rein gewinnen läßt,

so wurde eine kleine Menge rein dargestellt, gewogen und die Stärke der Wirkung geprüft. Es fand sich, daß noch 0,4 mg bei 5 ccm Volumen die in einem Tropfen serumfreier Hammelblutkörperchen enthaltenen Körperchen völlig auflöst. Die Grenze der Wirkung liegt also bei  $0,4 : 5000 = 1 : 12500$ . Für serumhaltiges Meerschweinchenblut wurde sie bei  $1 : 10000$  gefunden. Das Sapogenin des sauren und das des neutralen Saponins wirkten noch bei Mengen, die 1 g Kleie entsprechen, auf Hammelkörperchen bei entsprechender Untersuchung völlig lösend. Um festzustellen, welche Saponinpflanze anwesend ist, wurde die Kleie mikroskopiert. Schon bei der Untersuchung auf Ricinus waren schwarze Fragmente aufgefallen. Diese wurden jetzt bei genauerer Prüfung als Schalentteile der Kornradesamen erkannt. Eine Anfrage bei der hiesigen Landwirtschaftlichen Versuchstation, ob dort Muster rumänischer Kleie untersucht seien, ergab, daß dort in mehreren Mustern der in Mecklenburg verteilten ebenfalls Kornrade gefunden worden war, in anderen dagegen nicht. Um noch die aus einer ganz anderen Gegend stammende zu vergleichen, ließ ich mir durch eine Futtermittelhandlung in Coethen-Anh. eine Probe der dort verfütterten rumänischen Kleie kommen und fand in dieser ebenfalls sowohl mikroskopisch Kornradenschalenstückchen als die beiden Saponine, während ein Agglutinin sich nur in Spuren nachweisen ließ. Die Kornrade enthält, wie durch N. KRUSKAL<sup>7)</sup> und J. BRANDL<sup>8)</sup> dargetan ist, ein neutrales Saponin, das Agrostemmasapotoxin und ein saures, die Agrostemmasäure. Beide geben bei der Hydrolyse Glucose, Galactose, Arabinose sowie ein Sapogenin und eine noch unbekannte Säure. Die Agrostemmasäure wirkt noch bei  $1 : 10000$  und das Agrostemmasapotoxin noch bei  $1 : 50000$  in ganz reiner Form auf Meerschweinchenblut hämolytisch. Bei innerlicher Darreichung werden beide Saponine von den Sekreten und der normalen Darmflora erwachsener Pflanzenfresser tiefgreifend gespalten; sie sind daher für die Haustiere bei vorsichtiger Anfütterung und beim Fehlen von Magendarmkatarrh ungiftig. In der Tat gelang es mir weder mit der Rostocker noch mit der Coethener Probe der rumänischen Kleie binnen 8 Tagen erwachsene Mäuse zu vergiften, selbst wenn sie keine sonstige Nahrung bekamen. Dagegen würde es nicht erlaubt sein, aus der rumänischen Kleie und gutem Mehl Kleienbrot für Menschen darzustellen, da der menschliche Darmkanal die beiden Saponine der Kornrade nur sehr mangelhaft zu entgiften vermag und daher schon in kleinen Dosen, wie LEHMANN und MORI<sup>9)</sup> nachgewiesen haben, schädlich wirkt. Ebenso erheischt die Kornradendarreichung bei jungen Kälbern und Schweinen, die von der reinen Milchnahrung entwöhnt werden sollen, nach BRANDL<sup>10)</sup> große

<sup>7)</sup> N. Kruskal, Arbeiten des pharmakologischen Instituts zu Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, 1891, Bd. 6, S. 106.

<sup>8)</sup> J. Brandl, Arch. experim. Pathol. u. Pharm. 1906, Bd. 54; 1908, Bd. 59.

<sup>9)</sup> K. B. Lehmann und Mori, Arch. Hyg. 1889, Bd. 9, S. 257.

<sup>10)</sup> Brandl, Arch. experim. Pathol. u. Pharm. 1908, Bd. 59, S. 301; vergl. R. Kobert, Pharm. Post 1892, Oktober-November.

Vorsicht, weil bei diesen die glykosidspaltenden Funktionen des Magendarmkanales noch mangelhaft entwickelt sind. Intravenös wirkt schon 1 mg Kornradensapotoxin pro kg Tier tödlich. Für Fische wirken fast alle Saponine auch ohne Einspritzung, schon bei Zusatz zum Wasser, in dem sie leben, giftig. Setzte ich einen Aal in 4 l Wasser und fügte 30 g Normakleie hinzu, so blieb das Tier ganz gesund, während Zusatz von 30 g rumänischer Kleie es am zweiten Tage tötete.

Aus dem Gesagten ist zu entnehmen, daß die ungeheuren Mengen rumänischer Kleie, welche in Deutschland zum Verkauf gekommen sind, natürlich nicht durchweg dieselbe Beschaffenheit gehabt haben. Eine gewisse Menge enthielt unzweifelhaft reichlich Kornradenschalen und Kornradensamenbestandteile. Das Gemisch der beiden giftigen Saponine sitzt im Embryo, der um einen giftfreien Mehlkern herumliegt. Solche kornradenhaltige Kleie ist im Lande Mecklenburg, in der Stadt Rostock und in Anhalt zur Verteilung gekommen. Die Rostocker Portion enthielt außerdem ein ungiftiges Agglutinin, welches vielleicht auf Beimischung einer Wicke beruhte.







