

Zahlreiche in den letzten zwei Jahrzehnten vorgekommene unbeabsichtigte Vergiftungen von pflanzenfressenden Haustieren durch Rizinusbeimischung zum Futter haben das Kuratorium der Liebigstiftung veranlasst, mich zu weiteren Studien über die Giftigkeit und den Nachweis des Rizins anzuregen und dabei materiell zu unterstützen. Ich bin der Bayerischen Akademie der Wissenschaften für diese Unterstützung zu grösstem Danke verpflichtet. Ich fasse meine Aufgabe so auf, dass auch die andern etwa den Landwirt interessierenden Hämagglutinine dabei mit Berücksichtigung finden müssen, weil sonst grobe Irrtümer bei Anwendung meiner Angaben über Rizinuskachweis in der Praxis ganz unvermeidlich sind.

I. Definition und Darstellung des Rizins.

Im Jahre 1887 habe ich durch HERMANN STILLMARK¹⁾ das Wort Rizin in die Literatur einführen lassen. Wir meinen damit den Träger der Giftwirkung der Rizinussamenpresskuchen. Gleichzeitig liess ich, damit jeder unsere Versuche nachprüfen könne, nach meinen Vorschriften ein Rizinpräparat für den Handel aus entfetteten Samen darstellen. Diese Methode beruhte auf dem Prinzip, den Presskuchen mittels physiologischer Kochsalzlösung auszuziehen, diesen Auszug mittels Magnesiumsulfat auszusalzen und den dadurch entstandenen Niederschlag

¹⁾ Arbeiten des pharmakol. Instituts zu Dorpat, herausgegeben von R. KOBERT, Bd. 3, 1889, S. 59 (die zugrunde liegende Dissertation erschien schon 2 Jahre früher).

zu dialysieren. Dabei geht die Hauptmenge der Salze weg, während das Rizin zurückbleibt, da es nicht dialysierbar ist. Eine zweite Methode, welche für alle vegetabilischen Agglutinine wenigstens für unsere Zwecke hier verwendbar und viel einfacher ist, besteht in der Fällung des konzentrierten, 0.9% Kochsalz enthaltenden wässerigen Auszuges mit dem mindestens gleichen Volumen Alkohol, Nachwaschen mit wenig Alkohol und Trocknen des Niederschlages im Vakuum ohne Erhitzung auf Tonplatten, die vorher scharf getrocknet und angewärmt sind. Die Alkoholmenge beim Fällen des Auszuges recht gross zu wählen hat den Vorteil, dass man sehr rasch zur Filtration schreiten kann, und dass diese gut vor sich geht. Andererseits aber wird das Präparat um so unlöslicher, je konzentrierter der Alkohol war, mit dem es in Berührung gekommen ist, und je länger er eingewirkt hat.

Beide Methoden ergaben selbstverständlich kein reines Rizin, wohl aber eine von störenden Nebenstoffen freie rizinhaltige Substanz; sie liefern also ein für alle biologischen und pharmakologischen Untersuchungen ausreichendes Präparat. Jeder kann sich an der Hand obiger Angaben seine Substanzen relativ billig und mühelos selbst herstellen. Sie wirken stark und sind Jahre lang haltbar. Die Löslichkeit nimmt mit der Zeit natürlich ab; man muss daher immer den ungelöst gebliebenen Teil abziehen. Ebenso ist der Wasser- und Aschegehalt der Präparate in Abrechnung zu bringen. Die Asche ist namentlich bei den nach der ersten Methode gereinigten Präparaten sehr beträchtlich. Das Wasser durch scharfes Trocknen ganz zu entfernen empfiehlt sich nicht, weil dann die Löslichkeit rasch stark abnimmt. Die Asche besteht bei Benutzung der ersten Methode der Darstellung zumeist aus Magnesiumsulfat; sie stört, da meist nur stark verdünnte Lösungen benutzt werden, gewöhnlich nicht. Will man zum Zweck sehr feiner Versuche chemisch reines Rizin verwenden, so verfährt man nach OSBORNE.¹⁾

Nach diesem Autor extrahiert man das ganz entfettete schalenfreie Presskuchenpulver der Rizinussamen mit 10%iger

¹⁾ Biochem. Handlexikon, herausgegeben von E. ABDERHALDEN, Bd. 4, 1911, S. 37. Vergl. auch THOMAS B. OSBORNE, The vegetable Proteins (London 1909), S. 74 und 94.

Kochsalzlösung, wobei Albumin und Globulin in Lösung gehen, fällt das Globulin durch Dialyse und versetzt die filtrierte Lösung mit so viel Ammonsulfat, bis $\frac{6}{10}$ der vollständigen Sättigung erreicht sind. Der dabei entstehende Niederschlag enthält, praktisch genommen, das gesamte Rizinus-Albumin, d. h. das Rizin, und daneben eine beträchtliche Menge Proteose. Durch fraktionierte Fällung des gelösten Niederschlages mit Ammonsulfat wird der grösste Teil des Rizins bereits unterhalb 45 % Sättigung von der Proteose getrennt und niedergeschlagen. Eine vollständige Trennung des Rizins von der Proteose wurde auch von OSBORNE bisher noch nicht bewerkstelligt. Vielleicht lässt sie sich durch fraktionierte Fällung mit Magnesiumsulfat erreichen. Der Niederschlag muss mittels Dialyse gereinigt und bei 50° eingedunstet werden. In diesem Falle bleibt der Verdunstungsrückstand wasserlöslich. Die auf diese Weise erhaltene Substanz ist, wie schon oben gesagt wurde, ein Albumin. Ihre Menge beträgt ein Prozent des Presskuchens der entölten Samenkerne. Wir kommen auf diese wichtige Zahl unten zurück.

Schon 1887 habe ich mit STILLMARK das Rizin als in die Gruppe der pflanzlichen Albuminstoffe gehörig bezeichnet. Das reinste von OSBORNE erhaltene Präparat bestand zu 70 % aus Albumin und zu 30 % aus Proteose, die aber als eine an der Wirkung unbeteiligte Verunreinigung anzusehen ist. Nichtsdestoweniger besass das Präparat schon in Mengen von einem Tausendstel Milligramm tödliche Wirkung für ein erwachsenes Kaninchen. Dass man unter solchen Umständen zunächst kaum glauben möchte, nicht diese homöopathisch kleine Eiweissmenge, sondern eine noch viel viel kleinere, daran haftende Toxinmenge sei das Wirksame, ist selbstverständlich. Und doch will M. JACOBY¹⁾ ein eiweissfreies Rizin dargestellt haben, dessen letale Dose ebenso klein war. Eine eingehende Studie von OSBORNE, MENDEL und HARRIS²⁾ war der Entscheidung der Frage der Eiweissnatur des Rizins gewidmet. Sie zeigte, dass das Globulin der Rizinussamen gänzlich ungiftig ist, und dass fortschreitende Reinigung des Albumins dieser Samen auch fortschreitend seine Giftig-

¹⁾ Handb. d. Technik u. Methodik der Immunitätsforschung Bd. 1, Lief. 1 (Jena 1907), S. 313.

²⁾ Americ. Journ. of Physiol. 14, 1905, S. 259.

keit erhöht. Die von dem eben erwähnten Autor M. JACOBY¹⁾ behauptete Abtrennung des Albumins vom wirksamen Toxin durch langdauernde Trypsinverdauung wird von OSBORNE nicht anerkannt; vielmehr gipfelt seine Abhandlung über die Natur des Rizinusgiftes darin, dass er, genau wie STILLMARK 1887 und ich es 1889 getan haben, es für ein „echtes Toxalbumin“ erklärt. Selbst JACOBY erklärt am Ende seiner Polemik gegen die drei englischen Forscher, dass zwar sichere Beweise für die Eiweissnatur des Rizins fehlen, dass die spätere Erbringung solcher jedoch nicht ausgeschlossen ist. Natürlich wird niemand verhindert, die Vermutung auszusprechen, dass es mit der Zeit doch gelingen wird, dieses Toxalbumin in ein Toxin und ein wirkungsloses Albumin zu zerlegen; aber bis jetzt ist diese Trennbarkeit nach OSBORNE eben lediglich eine Hypothese. Den Versuch, die Eiweisskomponente abzuverdauen, habe ich gleich anfangs und später noch oft machen lassen; er ist auch von andern wiederholt worden. Ich halte das Ergebnis der Verdauungsversuche von OSBORNE, MENDEL und HARRIS für einwandfrei. Es besagt, dass das Rizin gegen Trypsin zwar lange Zeit hindurch widerstandsfähig ist, dann aber doch verdaut und dabei entgiftet wird. Auch JACOBY gibt zu, dass reines Rizin durch Trypsin zerstört wird. Zu der Annahme einer grossen Widerstandsfähigkeit des unreinen, d. h. des mit anderen Eiweissstoffen vermischten Rizins gegen die Verdauungsfermente, zwingt uns ja auch die weiter unten noch zu besprechende tödliche Wirkung selbst kleiner an Haustiere verfütterter Rizinismengen.

Die chemische Zusammensetzung des Rizins kann zurzeit natürlich noch nicht durch eine Formel ausgedrückt werden. Prozentisch ergaben sich bei dem reinsten OSBORNESCHEN Präparate 52.01 C, 7.02 H, 16.56 N, 1.29 S, 23.12 O. Das Rizin ist schon in Wasser, welches Spuren von Neutralsalzen enthält, löslich; auch in physiologischer Kochsalzlösung und in ihr isotonischen Lösungen anderer Neutralsalze löst es sich; es ist jedoch unlöslich in gesättigter Magnesiumsulfatlösung und in halbgesättigter Ammonsulfatlösung. Die Rizinlösungen drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links. Rizin gibt alle den Proteinen zukommenden Farbenreaktionen. Es wirkt aber noch letal in

¹⁾ Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 46, 1901, S. 39.

Verdünnungen, die keine der üblichen Reaktionen mehr geben und daher eiweissfrei zu sein scheinen. Solche Lösungen nennen einige eiweissfreie Rizinlösungen. Von Fällungsmitteln des Rizins nenne ich namentlich Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure. Absoluter Alkohol macht es rasch unlöslich und bedingt dadurch erheblichen Verlust der Wirksamkeit. Bei dem von mir vorgeschlagenen zweiten Darstellungsverfahren kommt es meist nur mit 50 % igem Alkohol in kurze Berührung, die nach meinen Erfahrungen unschädlich ist. Der Angabe von OSBORNE, dass alle Verfahren, welche Alkohol verwenden, die Wirksamkeit schwer beeinträchtigen, kann ich daher nicht bestimmen. Erhitzt man wässrige Rizinlösungen auf 60—70°, so soll nach OSBORNE, MENDEL und HARRIS¹⁾ „im allgemeinen“ Koagulation eintreten. Ich muss gleich hier dieser Angabe gegenüber betonen, dass bei allen von mir vorgenommenen Versuchen das in physiologischer Kochsalzlösung erhitzte Rizin seine Aktivität und Löslichkeit zum grössten Teile bewahrte, auch wenn eine ganze Stunde lang auf 70, ja selbst auf 75° erhitzt wurde. Die Reaktion muss dabei aber scharf neutral sein; verdünnte Salzsäure in minimaler Menge hebt bei 70° die Wirksamkeit binnen 1 Stunde völlig auf. Trockenes Erhitzen, z. B. beim Auspressen der Futterkuchen unter hohem Druck, hebt die Giftigkeit und die Blutwirkung des Rizins nicht auf, selbst wenn die Temperatur bis 120° ansteigt. Für die weiter unten folgenden Versuche mit Rizinus-Erdnussgemischen ist dies von grosser Wichtigkeit. Eine völlige Ausfällung des Rizins aus der Lösung in physiologischer Kochsalzlösung trat selbst bei halbstündiger Erhitzung auf 100° C. niemals ein, natürlich aber eine Denaturierung. OSBORNE betont, dass es eine Eigentümlichkeit vieler pflanzlichen Proteine ist, beim Kochen teilweise in Lösung zu bleiben.

Das Rizin hat die Fähigkeit, sich mit vielen lipoidreichen Zellen des Körpers der Menschen und Tiere chemisch zu verbinden. Ich habe dies schon 1900 mit C. LAU²⁾ studiert. Für isolierte Gehirn-, Leber-, Nierenzellen usw. habe ich es soeben mit REID von neuem festgestellt. In beiden Fällen war unsere Technik die, dass die völlig blut-

¹⁾ Americ. Journ. of Physiol. 14, 1905, S. 259.

²⁾ Über vegetabilische Blutagglutinine, S. 55. Dissert. Rostock 1901.

freien, durch ein feines Maschennetz von gröberem Partikeln getrennten Zellen in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und mit in physiologischer Kochsalzlösung gelöstem Rizin versetzt werden. Man sieht dann oft schon nach wenigen Minuten sich die Zellen zu gröberem Flocken zusammenballen, während in den Kontrollgläsern nichts derartiges wahrnehmbar ist. Natürlich kann man auch ein passendes Organ, wie z. B. die Leber, nach völliger Entfernung des Blutes mit RINGERScher Lösung, der Rizin zugesetzt ist, durchströmen, wie dies z. B. W. N. WORONZOW¹⁾ getan hat. Die Leberzellen verankern dabei das Gift und die ausströmende Flüssigkeit wird schliesslich ganz giftfrei. In ganz analoger Weise vermögen auch die roten Blutkörperchen das Rizin zu verankern. Davon wollen wir im Kapitel II weiter reden. Hier ist nur erst noch die Frage der Einheitlichkeit oder Nichteinheitlichkeit des Rizins zu besprechen. Für die exakte Chemie ist das Rizin bis jetzt eine chemische Einheit. Da es zwei leicht unterscheidbare Wirkungen, eine agglutinierende im Reagenzglas und eine toxische beim Tierversuch zeigt, so haben CUSHNY,²⁾ FR. MÜLLER³⁾ und andere behauptet, es sei ein Gemisch zweier Substanzen, eines Agglutinins und eines Toxins. Da jedoch die Leberzellen, die von dem hypothetischen Gemisch doch nur das Toxin verankern sollten, auch das Agglutinin der RINGERSchen Flüssigkeit entziehen, und da umgekehrt die Blutkörperchen der Zwischenflüssigkeit nicht nur Agglutinin entziehen, sondern auch deren toxische Eigenschaften ganz ausserordentlich schwächen, so beharre ich vorläufig noch auf meinem von Anfang an eingenommenen Standpunkte, dass der Beweis der Nichteinheitlichkeit des Rizins zurzeit noch nicht einwandfrei erbracht ist.

II. Wirkung des Rizins auf defibriertes verdünntes Blut.

Seit meinen ersten Versuchen mit STILLMARK verfährt man noch heute zur Prüfung der Wirkungsstärke des Rizins am besten in der Weise, dass man frisches Blut z. B. vom Kaninchen vorsichtig defibriert und mit physiologischer Kochsalzlösung

¹⁾ Beitrag zur Frage der entgiftenden Rolle der Leber im tierischen Organismus, S. 55. Diss. Dorpat 1910.

²⁾ Arch. exp. Path. und Pharm. Bd. 41, 1898, S. 439.

³⁾ Ebenda Bd. 42, 1898, S. 302.