

art daraus dargestellt. Sie enthält 10.44 % Wasser und 7.36 % Asche. Der in Kochsalzlösung unlöslich gewordene Teil ist in der nachstehenden Tabelle jedesmal ebenfalls mit in Abzug gebracht worden. Das Phasin entpuppte sich bei den Versuchen als Hämolysin. Die Tabelle enthält meine Ergebnisse. Ich bemerke jedoch, dass bei einigen der hier angeführten Blutarten die hämolytische Wirkung manchmal ausblieb, nie aber in Agglutination umschlug.

**Tabelle XI.**

Übersicht über die Wirkungen des Hämolysins des Besenkrautes.

Nummer	Blutart:	Grenze der totalen Hämolyse
1	Katzenblut . . . . .	1 : 22 800
2	Schweineblut . . . . .	1 : 22 800
3	Taubenblut . . . . .	1 : 11 490
4	Meerschweinchenblut . . . . .	1 : 11 490
5	Kaninchenblut . . . . .	1 : 7 835
6	Hundeblut . . . . .	1 : 7 815
7	Menschenblut . . . . .	1 : 4 690
8	Ziegenblutkörperchen . . . . .	1 : 2 280
9	Kalbsblut . . . . .	1 : 1 140

Rinder- und Hammelblut wurden von den hier in Betracht kommenden Dosen nicht beeinflusst.

Erhitzen für eine Stunde auf 70° machte dieses Phasin unwirksam. Eine Unterscheidung von saponinartigen Stoffen würde also durch Erhitzen auf diese Temperatur leicht zu ermöglichen sein.

## XII. Über Pseudoagglutination.

Von der durch die in Kapitel I—X beschriebenen Stoffe entstehenden echten Agglutination der roten Blutkörperchen ist die Pseudoagglutination bzw. Ausflockung biologisch scharf zu unterscheiden.

Alle giftigen, echten, vegetabilischen Agglutinine scheinen bei Einfuhr steigender Dosen im Warmblüterorganismus die Bildung eines spezifischen Antiagglutinins anzuregen und ihre Lösungen dürften sämtlich, mit diesem spezifischen Antiagglutinin zusammengegossen, im Reagenzglas einen Niederschlag bilden. Wie weit ungiftige Agglutinine des Pflanzenreiches Anti-

agglutinine bilden, bedarf noch weiteren Studiums. Da das Robin ein solches bildet, sollte man meinen, dass alle Phasine im gleichen Sinne wirken. Dieser Anschauung widersprechen jedoch M. v. EISLER und L. v. PORTHEIM,<sup>1)</sup> die sich umsonst bemüht haben, durch Einspritzen von Daturaphasin ein Anti-agglutinin zu erzeugen. Hier müssen eben zahlreiche weitere Versuche angestellt werden.

Ganz anders als bei der Agglutination ist das Verhalten bei der Pseudoagglutination. Hier entsteht einfach in dem verdünnten Blute beim Zusatz der fraglichen Substanz ein feiner Niederschlag, der die Blutkörperchen adsorbiert und mit niederreisst. Eins der klassischsten Beispiele dieser Art habe ich selbst seinerzeit gefunden und durch ALFR. SIEGFRIED<sup>2)</sup> beschreiben lassen. Versetzt man 2%ige Aufschwemmung von Blut oder Blutkörperchen mit einer frisch hergestellten Lösung von möglichst wenig alkalischem, kieselsaurem Natrium, so bildet sich allmählich unlösliche Kieselsäure und reisst die Blutkörperchen mit nieder, aber ein zusammenhängender Klumpen entsteht nicht. Hier handelt es sich also um ein unorganisches Pseudo-hämagglutinin.

Sehr viele aus Futtermitteln, z. B. aus Kleie, Erdnuss usw. gewonnene Kochsalzauszüge reagieren schwach sauer und geben beim Neutralisieren einen Niederschlag, dessen unorganische Bestandteile Kalk und Phosphorsäure sind. Würde man einen solchen Auszug unneutralisiert zu Blutkochsalzmischung setzen, so könnte ein Agglutinin vorgetäuscht werden, denn der bei dem Kontakt mit dem alkalischen Serum entstehende Niederschlag reisst die Blutkörperchen ganz oder teilweise mit nieder und kann den Eindruck der Ausflockung, ja der Agglutination machen. Gerade dieser Fehler liegt sehr nahe, so dass ich besonders vor ihm warnen muss.

Von den vegetabilischen Pseudoagglutininen sind in erster Linie alle Gerbstoffe im weitesten Sinne zu nennen, namentlich falls die betreffenden Auszüge, wie ja meist der Fall ist, sauer reagieren. Setzt man einen solchen Auszug zu Blut-

<sup>1)</sup> Über ein Hämagglutinin im Samen von Datura. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 1, 1908, S. 151.

<sup>2)</sup> Ein Beitrag zur Kenntnis des physiologisch-chemischen und pharmakologischen Verhaltens des kieselsauren Natriums usw. Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie Vol. 9, 1901, S. 225.

kochsalzlösung, so fällt gerbsaures Eiweiss aus und reisst die Blutkörperchen nieder. Hat man es mit völlig serumfreien Blutkörperchensuspensionen zu tun, so bildet sich an der Oberfläche der Blutkörperchen eine rauhe oder klebrige Schicht, welche ein Zusammenballen begünstigt. Untersucht man z. B. die frischen Hülsen der *Wistaria sinensis* oder der *Wistaria frutescens*, so bekommt man, selbst wenn man den Auszug neutralisiert hat, Pseudoagglutination durch einen Gerbstoff. Um diesem Fehler zu entgehen, schlägt man den Auszug mit Alkohol nieder und löst den Niederschlag wieder in Kochsalz auf. Enthält er jetzt immer noch Gerbstoff, so wiederholt man die Ausfällung. Bei Untersuchung von Rindenauszügen auf Phasine ist die Abscheidung der Gerbstoffe natürlich dringend erforderlich.

Eine weitere Gruppe von Stoffen, die Täuschung veranlassen können, sind die Sapogenine. Sapogenine sind hydrolytische Spaltungsprodukte von Saponinen und können sich unter Umständen neben ihren Muttersubstanzen, z. B. in Blättern, Fruchtschalen und Samen der Rosskastanie präformiert finden oder in Auszügen einzelner Wiesenpflanzen (z. B. der *Silene nutans*) und einzelner Getreideunkräuter (z. B. der Kornrade) durch geformte oder ungeformte Fermente bilden. Wie ich soeben dargetan habe, tut man gut, mehrere Klassen von Sapogeninen zu unterscheiden, die ich als Anfangsapogenine und Endsapogenine bezeichnet habe. Erstere enthalten noch Zucker und können daher auch als sekundäre Glykoside aufgefasst werden.<sup>1)</sup>

Die Ausflockung durch Sapogenine kann in zweierlei Weise zustande kommen, und zwar erstens durch Kolloidwerden ihrer Lösung und zweitens bei einigen durch Bildung unlöslicher Kalksalze. Wir betrachten zunächst den ersten Fall.

Die neutralen Alkalisalze einiger Sapogenine haben die Neigung, bei längerem Stehen ihrer nicht zu verdünnten wässerigen Lösung in einen gallertartigen, also kolloidalen Zustand überzugehen, auch wenn die Sapogenine, aus denen die Lösungen gebildet worden sind, schön kristallinisch waren. Diese Neigung zum gallertartigen Unlöslichwerden ist natürlich um so stärker, je konzentrierter die Lösungen sind. Diese Neigung wird ferner durch Eintragen von Blut oder Blutkörperchen verstärkt. So

<sup>1)</sup> EULENBURGS Realencyklopädie der gesamten Medizin Bd. 13, 1912, Artikel Saponine.

kommt es, dass Gemische von Blut mit viel sapogeninsaurem Alkali unter Umständen beim Stehen kolloidal werden und in Flocken, die die Blutkörperchen adsorbieren und mit niederreißen, ausfallen, während analoge Gemische, die weniger Sapogenin enthalten, durch die hämolytische Kraft der Sapogenine total hämolysiert werden. Diese Tatsache habe ich durch W. LAUBE<sup>1)</sup> beschreiben lassen. LAUBE hat sie für ein von der Firma E. Merk bezogenes Endsapogenin, welches höchstwahrscheinlich aus dem Saponin der *Gypsophila Arrostii* Gussone dargestellt worden war, an vielen Blutarten durchuntersucht. Er benutzte allerdings zur Herstellung seiner physiol. Kochsalzlösung gewöhnliches Tafelsalz, welches nicht ganz rein ist. Die Blutarten hatten dieselbe Konzentration wie in meinen Versuchen. Die Lösung des Sapogenins erfolgte teils unter Neutralisierung mit Natronlauge, teils mit Natriumkarbonat. In einigen Versuchen war die Mischung etwas alkoholhaltig. Einige Versuche wurden glatt unter Zuhilfenahme von physiol. Kochsalzlösung, andere unter Benutzung von isotonischer Rohrzuckerlösung ausgeführt. Bei einigen wurde statt des käuflichen Sapogenins ein von Prof. ROSENTHALER dargestelltes, aus derselben Droge stammendes angewandt. In allen Fällen war das Ergebnis dasselbe: grosse Dosen des Endsapogenins der *Saponaria alba* wirkten auf 9 von 12 Blutarten ausflockend, kleine hämolytisch. Die Einzelheiten gibt die folgende Tabelle. Nur 3 Blutarten reagierten bei keiner Konzentration mit Agglutination.

(Siehe die Tabelle auf S. 108.)

Soeben hat Prof. ROSENTHALER die Liebenswürdigkeit gehabt, mir ein noch weit reineres, prachtvoll kristallinisches Endsapogenin derselben Droge zu senden. Ich löste es in der von ihm angegebenen Weise konzentriert unter Zuhilfenahme zunächst nur von Alkohol, neutralisierte mit Natronlauge und verdünnte dann mit chemisch reiner physiologischer Kochsalzlösung bis zu der erforderlichen Grenze und konstatierte, dass bei 1%igen Pferdeblutkörperchen sowie bei 2%igem Meerschweinchen- und Menschenblut bei 1:2000 bis zu 1:4000 rasch totale Ausflockung erfolgte, während

<sup>1)</sup> Beiträge zur Kenntnis der Wirkung einiger Sapogenine usw. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther. Bd. 10, 1912.

viel stärkere Verdünnungen, und zwar bis zu 1:40000, total hämolytisch wirkten.

**Tabelle XII.**

Doppelwirkung des Endsapogenins der *Saponaria alba*.

Nummer	Blutart:	Totale Ausflockung erfolgt bei 1.	Totale Hämolyse erfolgt noch bei 1:
1	Katzenblutkörperchen . . . . .	433—600	6 000
2	Katzenblut . . . . .	1100—1200	6 000
3	Kaninchenblut . . . . .	600	2 200
4	Meerschweinchenblut . . . . .	550—1100	4 333
5	Menschenblut . . . . .	150—211	11 000
6	Menschenblutkörperchen . . . . .	4333	20 000
7	Hammelblut . . . . .	2200	11 000
8	Taubenblut . . . . .	700	4 333
9	Pferdeblut . . . . .	1909	4 333
10	Pferdeblutkörperchen . . . . .	1500	7 500
11	Hühnerblut . . . . .	600	3 000
12	Aalblut . . . . .	600	3 500
13	Hundeblut . . . . .	0	6 000
14	Schweineblut . . . . .	0	11 000
15	Kalbsblut . . . . .	0	24 285

Damit ist der Verdacht, dass die LAUBESCHEN Versuche bei Anwendung von chemisch reinem Kochsalze keine Ausflockung gezeigt haben würden, widerlegt. Weiter liess sich auch direkt dartun, dass ein kleiner Gehalt des Kochsalzes an Chlorcalcium ohne Belang ist, denn die von mir verwandten Lösungen des kristallisierten Sapogenins der weissen Seifenwurzel geben mit 1%iger Lösung von Chlorcalcium versetzt keinen Niederschlag, da gerade dieses Sapogenin im Gegensatz zu gewissen anderen Sapogeninen ein wasserlösliches Kalksalz bildet.

Weiter war ich in der Lage, ein analysenreines kristallinisches Sapogeninkalium des *Agrostemmasapotoxins* der Kornrade zu verwenden, welches Prof. BRANDL in München für mich dargestellt hatte. Es löste sich 1:100 in reiner physiol. Kochsalzlösung klar auf. Meine Versuche damit bezogen sich auf Katzenblutkörperchen, Hahnblut, Hahnblutkörperchen und Menschenblut der Placenta. Alle diese wurden 2%ig in physiol. Kochsalzlösung suspendiert. Ich verzichte auf die Einzelheiten und führe nur an, dass bei allen diesen Blutarten

das Agrostemmasapogenin als Kaliumsalz in einer Konzentration von 1:200 sofort total ausflockend und bei 1:2000 sofort total hämolytisch wirkte. Die Grenzen für beide Wirkungen festzustellen hatte ich nicht Substanz genug. Obiges genügt aber vollkommen, um zu behaupten, dass auch das in alkoholfreier reiner Kochsalzlösung klar lösliche Sapogeninkalium aus Agrostemmasapotoxin dem Endsapogenin aus Saponalbin sich analog verhält, d. h. dass es bei starker Konzentration ausflockend, bei geringerer aber hämolytisch wirkt.

Ich komme jetzt zu denjenigen Sapogeninen, welche in Wasser ganz unlösliche Kalksalze bilden und daher schon durch wenige Milligramme Kalk, die entweder im unreinen Kochsalz<sup>1)</sup> oder im Blutserum sich finden, leicht unlöslich werden. Hierher gehört z. B. das durch Hydrolyse des neutralen Mowhrinsaponin erhaltene Mowhrinsapogenin. Herr Prof. SPIEGEL hatte die Güte, mir mehrmals kleine Quantitäten davon zur Verfügung zu stellen. Setzte ich zu einer Lösung dieses Mowhrinsapogenins 1:1000 auch nur wenige Tropfen einer 1%igen Chlorcalciumlösung, so entstand fast momentan ein glasiger sehr voluminöser Niederschlag, der sehr geneigt war, Blutkörperchen mit sich niederzureissen und daher ebenfalls Ausflockung zu veranlassen.

Genug, Pseudoagglutination bzw. Ausflockung ist eine Erscheinung, auf die man beim Zusammenbringen von Sapogeninen mit Blut gefasst sein muss.

Zum Schluss sei es mir erlaubt meinen Mitarbeitern, namentlich Herrn Dr. GONNERMANN und Herrn Dr. HALBERKANN, meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

---

<sup>1)</sup> Kürzlich ist sogar der Vorschlag gemacht worden, die roten Blutkörperchen bei Versuchen über Hämolyse oder Agglutinine immer in chlorcalciumhaltiger physiologischer Kochsalzlösung zu suspendieren.