

suchungen die Baljetsche Reaktion sowie die Nitroprussidnatrium-Reaktion. Sollte man nun nicht aus dem negativen Ausfall dieser Reaktion bei den Bovieaglykosiden auf das Fehlen einer solchen ungesättigten Laktongruppe schließen dürfen? Der Unterschied zwischen dem Aglykon des Scillarins A, dem Scillaridin A, und den Aglykonen der übrigen bislang analysierten Herzglykoside kommt auch schon in der Summenformel zum Ausdruck; denn während die Genine aller bekannten Herzglykoside 23 C-Atome besitzen, enthält das Scillaridin A 24 C-Atome. Ob die Aglykone der Bovieaglykoside auch hinsichtlich der Anzahl der C-Atome mit dem Scillaridin A übereinstimmen, hoffen wir entscheiden zu können, wenn es uns gelingt, größere Pflanzenmengen, als sie uns heute zur Verfügung stehen, zu beschaffen.

645. Robert Jaretsky:

Alkaloidgehalt und Wirksamkeit saprophytischer Mutterkornkulturen.

(Aus dem Pharmakognostischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig.)

Eingegangen am 6. April 1935.

Die in Deutschland alljährlich von Apothekern und pharmazeutischen Industrien benötigten Mutterkornmengen betragen nach eigenen Feststellungen rund 40 000 kg. Hiervon wird durchschnittlich nur 1% in Deutschland aufgebracht, die Hauptmenge muß aus dem Ausland eingeführt werden. Dieser Mangel an eigenem Erntegut hat sich schon einmal, während des Weltkrieges, als Deutschland von den Mutterkorn ausführenden Ländern abgeschnitten war, recht unliebsam bemerkbar gemacht. Man sah sich gezwungen, nach Ersatzpräparaten zu suchen, fand schließlich auch im Hirtentäschelkraut einen Ersatz, doch bewährte sich dieser so schlecht, daß man ihn schon in den ersten Jahren nach dem Kriege wieder aufgab. Heute ist es wohl möglich, aus dem Auslande Mutterkorn zu beziehen, doch bedeutet eine solche Einfuhr eine weitere Verknappung unserer Devisen. Es verdient daher sowohl vom staatspolitischen wie vom volkswirtschaftlichen Standpunkt aus die Frage unser besonderes Interesse, ob nicht die Möglichkeit besteht, uns durch eigene rentable Mutterkornzüchtung vom Auslande frei zu machen.

Die künstliche Züchtung von Mutterkorn ist schon wiederholt von den verschiedensten Forschern mit Erfolg durchgeführt worden, und zwar sowohl auf dem natürlichen Standort des Pilzes, dem Roggen oder auch irgendeiner anderen Graminee, als auch auf einem der üblichen, für Pilzkulturen geeigneten saprophytischen Nährböden. Da diese Kulturversuche aber bis auf wenige Ausnahmen in den

letzten Jahren (McCrea¹⁾, Kreitmair und Küssner²⁾) nur von Botanikern zur Lösung rein botanischer oder evtl. auch phytopathologischer Probleme angestellt wurden, blieben die Fragen ungelöst, ob und in welchen Mengen der künstlich gezüchtete Pilz therapeutisch wirksame Alkaloide enthält und wie weit die Steigerung eines evtl. Alkaloidgehaltes durch entsprechende Kulturmaßnahmen möglich ist.

Zur Lösung dieser Fragen habe ich bereits im Jahre 1931 die nötigen Vorbereitungen durch einen meiner Schüler treffen lassen. Ich nahm bewußt Abstand von einer Mutterkornkultur auf der lebenden Roggenpflanze durch künstliche Infektion der sich öffnenden Blüten, einmal, weil die Durchführung solcher Kulturen in großem Ausmaße ja doch an dem Risiko einer schwer übersehbaren Verseuchungsgefahr der weiteren landwirtschaftlichen Umgebung scheitern dürfte, zum anderen aber auch, weil sich die für die Alkaloidbildung im Pilz geeigneten Faktoren auf der Roggenpflanze nur sehr schwierig bestimmen, kontrollieren und verändern lassen. Wie stark der Pilz bezüglich seiner Alkaloidbildung auf solche unbekannt und unkontrollierbaren Faktoren reagiert, erhellt aus den Beobachtungen der Japaner Ogata und Ohtani³⁾, die Mutterkorn sowohl auf *Secale cereale* als auch auf *Phalaris arundinacea* künstlich gezüchtet haben. Das aus dem auf *Secale* entstandenen Mutterkorn bereite Extrakt war biologisch unwirksam und damit auch alkaloidfrei, während das entsprechende Extrakt aus Mutterkorn von *Phalaris* die doppelte Wirksamkeit des Handelsproduktes besaß.

Die hier angedeuteten Schwierigkeiten und Bedenken fallen bei einer Kultur des Mutterkornpilzes auf irgendeinem flüssigen oder festen saprophytischen Nährboden fort. Solche Kulturen sind schon von zahlreichen Forschern mit großem Erfolge durchgeführt worden, ja, Apotheker Kirchoff⁴⁾ in Braunschweig hat sogar auf bestimmten Nährböden unter bestimmten Bedingungen kleine Sklerotien erhalten. McCrea ist es wohl nicht gelungen, den Pilz in ihren Kulturen zur typischen Sklerotienbildung zu veranlassen, sie erzwang aber immerhin, z. B. durch Eintrocknung des Kulturmediums im Luftstrom, die Bildung von Myzelknoten, die sie für Vorstufen der echten Sklerotien hielt und sie daher Pseudosklerotien nannte. Manche dieser Pseudosklerotien hatten einen Durchmesser von 3 mm. Es ist meines Erachtens aber für unsere Zwecke gar nicht von Bedeutung, ob der Pilz in einer Kultur zur Sklerotienbildung schreitet oder nicht, entscheidend ist für eine fabrikatorische Ausnutzung solcher Kulturen nur die vom Pilz gebildete Alkaloidmenge. Somit ergab sich für uns die Forderung, eine möglichst große Zahl von auf verschiedenen Nährmedien gezogenen Pilzkulturen ohne Rücksicht auf eine evtl. Sklerotienbildung auf ihren Alkaloidgehalt zu prüfen.

Eine solche Prüfung wurde von meinem Schüler Martin unter Anwendung chemischer Methoden vorgenommen. Als Nährboden

¹⁾ A. McCrea, Amer. J. Bot. 18, 50—78, (1931).

²⁾ H. Kreitmair u. W. Küssner, Biochem. Z. 239 (1931).

³⁾ Ogata u. Ohtani, J. pharmac. Soc. Japan, 52, 15—17 (1933).

⁴⁾ H. Kirchoff, Beiträge zur Biologie und Physiologie des Mutterkornpilzes, Dissertation Braunschweig 1929.

diente ein mit Nährsalzen und organischen Nährstoffen beschickter 2%iger Agar. Von dem frisch bereiteten, noch warmen und daher flüssigen Nährboden wurden stets genau je 40 ccm in Reagenzgläser von 3 cm lichter Weite und 20 cm Länge gegeben. Nach dem Sterilisieren im strömendem Wasserdampf wurden die Reagenzgläser zum Erstarren der Lösung in einem Gestell in schräger Lage beiseite gestellt und dabei auf Einhaltung des gleichen Neigungswinkels bei den Gläsern geachtet, um eine stets gleich große Oberfläche und damit für den Pilz eine stets gleich große Ausbreitungsmöglichkeit zu schaffen. Nach dem Erstarren der Lösungen wurden die Nährböden beimpft. Als Impfmateriale verwandte Martin steril entnommene Stücke des pseudoparenchymatischen Gewebes aus dem Innern eines Sklerotiums. Diese Stücke keimten, wenn überhaupt, innerhalb kurzer Zeit aus. Schon nach wenigen, in den meisten Fällen nach 8 bis 10 Tagen war ein makroskopisch deutlich wahrnehmbares Hyphengeflecht gebildet. Von diesem Zeitpunkte ab nahm das Wachstum des Pilzes ein Riesentempo an, denn schon nach 30 Tagen war, wenigstens auf einigen Nährböden, die gesamte Agarfläche mit Hyphen bedeckt. In Übereinstimmung mit älteren Autoren trat auch in unseren Kulturen der Pilz in verschiedenen Wuchsformen auf. Am häufigsten war die Watteform, die wie ein weißer Rasen das ganze Substrat überzog, seltener die Gekröseform, welche ihren Namen dem eigenartigen, unregelmäßig gefalteten Hyphenlager verdankt.

Der qualitative Nachweis von Alkaloiden in solchen Kulturen ist sehr einfach. Das Pilzmyzel wird möglichst vorsichtig von dem Nährboden abgehoben, bzw. abgeschnitten und nach Trocknung im Vakuumexsikkator im Soxhletapparat mit schwach ammoniakalischem Äther extrahiert. Mit diesem Ätherextrakt lassen sich dann die für die Secalealkaloide bekannten Reaktionen durchführen. Martin benutzte unter anderem auch die Cornutin-Reaktion. Alle untersuchten Kulturen, auch solche, die nicht in den Tabellen 1 bis 3 verzeichnet sind — wie z. B. Dextrose + anorganische Stickstoffquellen, Brot, Roggenbrot usw. —, ergaben positive Reaktion.

Für die quantitative Alkaloidbestimmung wurde ein eigenes Verfahren ausgearbeitet, das sich in zahlreichen blinden Versuchen mit Agarnährböden, denen verschiedene Mengen Gynergen-Sandoz zugesetzt waren, sehr gut bewährt hatte. Zunächst war es unsere Absicht gewesen, den Alkaloidgehalt in Beziehung zur Pilzmasse quantitativ festzulegen. Es erwies sich aber als unmöglich, den Pilz vollkommen von seinem Nährsubstrat zu trennen, da der Pilz, besonders bei den Gekröseformen, mit seinen Hyphen mehr oder weniger tief in den Nährboden eingedrungen war. Es blieb somit nur die Möglichkeit, die von dem Pilz in einer bestimmten Zeitspanne in Kulturböden gleicher Gewichtsmenge und gleicher Oberfläche gebildete Alkaloidmenge zu ermitteln. Um die entsprechenden Vorbedingungen für eine quantitative Bestimmung zu schaffen, wurden daher, wie schon eingangs ausgeführt, stets gleich weite und gleich hohe Reagenzgläser mit stets 40 ccm Nährboden gefüllt und dieser unter einem bestimmten Neigungswinkel zum Erstarren gebracht. Der Pilz wurde mitsamt dem Nährboden in einer Schale unter Zusatz von

feinem Sand zu einer homogenen Masse verrieben. Diese wurde sodann zwecks möglichst weitgehender Austrocknung auf einige Stunden in einen Vakuumexsikkator verbracht. Danach wurde im Soxhletapparat 12 Stunden lang mit schwach ammoniakalischem Äther extrahiert. Der vierte Teil des Ätherextraktes (die anderen Teile wurden zu anderweitigen Bestimmungen benutzt) wurde vorsichtig durch gelindes Erwärmen vom Äther befreit und der Rückstand mit 3 ccm Eisessig aufgenommen. 0,5 ccm dieser Lösung wurden in ein enges Reagenzglas von 1 cm lichter Weite gegeben und behutsam mit einer 0,1%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in konz. Schwefelsäure unterschichtet. Trat hierbei an der Grenzschicht beider Flüssigkeiten noch ein deutlicher blauer Ring auf, der auf eine Reaktion der spezif. Mutterkornalkaloide mit dem Reagens zurückzuführen ist, so wurde der Versuch mit 0,5 ccm einer durch Eisessig um das gleiche Volumen verdünnten alkaloidhaltigen Lösung wiederholt. Diese Arbeiten wurden in immer größeren Verdünnungen so lange fortlaufend durchgeführt, bis der Ring nicht mehr in Erscheinung trat. Die letzte Verdünnungsstufe, die gerade noch einen blauen Ring erkennen läßt, ist einer Lösung von 0,0125 mg Ergotaminbitartrat in 0,5 ccm Eisessig gleichzusetzen; denn bei einer weiteren Verdünnung der Ergotaminbitartratlösung bleibt auch hier die Ringbildung aus. Aus der Anzahl der Verdünnungsstufen wurde dann der Alkaloidgehalt der Kulturen — bezogen auf Ergotaminbitartrat — berechnet.

Um dem Einwand zu begegnen, daß wir mit dem p-Dimethylaminobenzaldehyd nur das Ergotamin in unseren Kulturen bestimmt und alle anderen Alkaloide außer acht gelassen hätten, muß darauf hingewiesen werden, daß nach bisherigen Untersuchungen auch die Alkaloide Ergotaminin, Ergotoxin, Ergotinin und Pseudoergotinin mit demselben Reagens qualitativ gleiche Reaktionen ergeben. Nur bezüglich der quantitativen Wirkung bestehen Unterschiede insofern, als die stark wirkenden Alkaloide Ergotoxin und Ergotamin eine intensivere Färbung geben als Ergotaminin und Ergotinin bei gleicher Konzentration. Ich möchte hier die Vermutung aussprechen, daß auch die neu entdeckten Alkaloide Sensibamin⁵⁾ und Ergoclavine⁶⁾ das gleiche Verhalten diesem Reagens gegenüber zeigen werden. Denn nur unter dieser Annahme ist zu verstehen, warum die von Smith ausgearbeitete kolorimetrische Methode, die sich ebenfalls des p-Dimethylaminobenzaldehyds bedient, bei der Bestimmung von Mutterkornzubereitungen Werte liefert, die mit denen biologischer Prüfungsmethoden annähernd übereinstimmen. Wenn wir auch nicht die Methode von Smith haben anwenden können, weil die Reaktion der Alkaloide in einer 1%igen Weinsäurelösung häufig durch atypische Reaktionen verdeckt wurde, die auf unbekanntes, aus dem Agar herausgelöste Substanzen zurückgeführt werden müssen, so dürfte doch der Ersatz der Weinsäurelösung durch Essigsäure nichts Wesentliches am Endresultat geändert haben. Wir werden daher mit Recht aus dem von uns erhaltenen Ergebnissen der kolorimetrischen Bestimmung unmittelbar auf den Wirkungswert schließen dürfen.

Mit der soeben besprochenen kolorimetrischen Bestimmungsmethode wurden, um die Abhängigkeit der Alkaloidbildung von der

⁵⁾ A. G. Chinoiu u. Wolf, Patentanm. C 45 550, 12p. 11, 1931.

⁶⁾ W. Küssner, Arch. Pharmaz. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges. 272, 503, 504 (1934).

Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zu studieren, zahlreiche Kulturen untersucht, in denen die Kohlenstoff- und Stickstoffquellen untereinander variierten, während die übrigen Nährstoffe in sämtlichen Nährböden unverändert blieben, so daß jede Kultur 0.1% Monokaliumphosphat und 0.025% Magnesiumsulfat enthielt. Als Kohlenstoffquellen wurden dem Agar entweder 10% Dextrose oder 5% Maltose, resp. 5% Mannit zugesetzt. Als Stickstoffquellen wurden hinzugegeben: 1% Asparagin oder 3% Gelatine oder 2% Pepton, bzw. 1% Leucin.

Um gleichzeitig den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung und Alkaloidbildung des Pilzes zu studieren, wurde jede Kulturgruppe in drei parallelen Reihen unter drei verschiedenen Bedingungen gehalten.

Die Kulturen der ersten Reihe wurden ununterbrochen mit elektrischem Licht von 60 Watt Stärke belichtet; eine übermäßige Erwärmung wurde durch Zwischenschalten einer Wasserschicht verhindert.

Die Kulturen der zweiten Reihe wurden in demselben Raume in lichtdicht verschlossenen Schränken untergebracht.

Eine dritte Kulturreihe wurde schließlich auf einem Tisch in der Nähe eines Fensters ausgelegt, weil mit der Möglichkeit zu rechnen war, daß der Wechsel von Licht und Dunkel bei Tag und Nacht einen gewissen Reiz auf das Wachstum ausüben könnte. Die Temperatur in den Kulturräumen schwankte zwischen 18 und 20°.

30 Tage nach Beginn der Auskeimung wurden aus jeder Gruppe 3 Kulturen untersucht. Es zeigte sich, daß die Kulturen derselben Gruppe nur um ein wenig in ihrem Alkaloidgehalt voneinander abwichen. Licht und Dunkelheit, resp. der Wechsel von Dunkel und Hell haben unverkennbar einen Einfluß auf die Alkaloidbildung wie auch auf das Myzelwachstum, aber dieser Einfluß ist doch nur gering und kann hier ganz übergangen werden.

Dagegen konnte eine starke Abhängigkeit des Myzelwachstums und der Alkaloidbildung vom Nährmedium festgestellt werden. Die Schwankungen im Alkaloidgehalt betragen in den Kulturen verschiedener Gruppen bis zu 400% (siehe Tabelle I bis III). Leucin hat sich als Stickstoffquelle nicht bewährt. Auf den Kombinationen Dextrose-Leucin und Maltose-Leucin erzeugte der Pilz nur sehr geringe Mengen Alkaloide, und auf der Kombination Mannit-Leucin kam es nicht einmal zur Auskeimung des Myzelstückes. Pepton hat in allen drei Kohlehydratkombinationen gute Resultate geliefert, die besten in der Kombination mit Maltose. Der Pilz erzeugte auf dem Pepton-Maltose-Agar nach 30tägigem Wachstum eine Alkaloidmenge entsprechend 2.45 mg Ergotaminbitartrat, eine Menge, die nach unseren Untersuchungen erst von 60 kleinen, natürlichen Sklerotien erreicht wird. Von den Kohlehydraten ergab Maltose in allen Fällen die besten Resultate. Ganz allgemein gilt die Feststellung, daß gut gewachsene Kulturen auch eine große Alkaloidmenge aufweisen können; aber nicht immer ist ein Parallelismus zwischen Myzelwachstum und Alkaloidbildung zu erkennen. Als Beispiel diene die Kombination Dextrose-Asparagin, welche trotz sehr guten Myzelwachstums nicht mehr Alkaloide lieferte als die nur gut oder gar genügend entwickelten Kulturen auf anderen Nährböden.

Tabellen 1—3.

N-Quelle	Wuchsform	Belichtung	A-p _H	E-p _H	Alkaloidmenge bezogen auf Ergotaminbitartrat g
C-Quelle: Maltose 5%					
Asparagin 1%	G 2	Dauerbel.	7.5	8.2	0.0015
"	G+W 2	Tag	7.5	8.2	0.0015
"	G+W 2	Dunkel	7.5	8.5	0.00145
Gelatine 3%	W 3	Dauerbel.	5.8	7.9	0.0017
"	W 3	Tag	5.8	8.4	0.0012
"	W 2	Dunkel	5.8	7.4	0.00145
Pepton 2%	G 1	Dauerbel.	6.0	8.0	0.0021
"	G+W 1	Tag	6.0	8.4	0.00245
"	G 1	Dunkel	6.0	8.4	0.0018
Leucin 1%	W 3	Dauerbel.	7.2	6.9	0.0007
"	W 3	Tag	7.2	6.0	0.0006
"	W 3	Dunkel	7.2	6.4	0.0009
C-Quelle: Mannit 5%					
Asparagin 1%	W 2	Dauerbel.	7.8	8.0	0.0014
"	W 3	Tag	7.8	7.4	0.0012
"	G 2	Dunkel	7.8	8.4	0.0013
Gelatine 3%	W 2	Dauerbel.	5.4	7.1	0.00135
"	W 2	Tag	5.4	8.0	0.00115
"	W 1	Dunkel	5.4	7.2	0.00135
Pepton 2%	G 1	Dauerbel.	6.2	8.4	0.0017
"	G 1	Tag	6.2	8.4	0.00165
"	G 1	Dunkel	6.2	8.2	0.0015
Leucin 1%	—	Dauerbel.	7.2	—	—
"	—	Tag	7.2	—	—
"	—	Dunkel	7.2	—	—
C-Quelle: Dextrose 10%					
Asparagin 1%	W 1	Dauerbel.	7.0	8.0	0.00105
"	W 1	Tag	7.0	6.0	0.0012
"	W 1	Dunkel	7.0	8.0	0.0011
Gelatine 3%	W 2	Dauerbel.	6.9	6.0	0.0014
"	W 2	Tag	6.9	4.7	0.0009
"	W 1	Dunkel	6.9	5.6	0.0016
Pepton 2%	W 1	Dauerbel.	5.9	7.2	0.0015
"	W 1	Tag	5.9	6.1	0.0012
"	W 1	Dunkel	5.9	6.9	0.00125
Leucin 1%	W 2	Dauerbel.	6.9	5.6	0.0012
"	W 3	Tag	6.9	6.0	0.00095
"	W 3	Dunkel	6.9	5.7	0.0009

A-p_H bedeutet Anfangs-p_H, d. h. kurz vor der Beimpfung.

E-p_H „ End-p_H, d. h. kurz vor der Untersuchung.

W „ Watteform.

G „ Gekröseform.

1 „ sehr gutes Wachstum.

2 „ gutes Wachstum.

3 „ mäßiges Wachstum.

Um die in den Tabellen eingetragenen Ergebnisse der kolorimetrischen Methode zu prüfen resp. zu erhärten, habe ich einige dieser Kulturen biologisch ausgewertet. Die Auswertung wurde von mir nach der von Broom und Clark ausgearbeiteten und heute allgemein anerkannten Methode vorgenommen, welche die Inversion der Adrenalinwirkung an Organen oder Gefäßen durch Mutterkornalkaloide zur Grundlage hat. Adrenalin, welches beim überlebenden Kaninchenuterus normalerweise eine kontrahierende Wirkung ausübt, wird durch die Mutterkornalkaloide in seiner Wirkung entweder gehemmt oder umgekehrt.

Um die Inversion der Adrenalinwirkung am Kaninchenuterus festzustellen und ihre Größe messen zu können, entnehmen wir einem ausgewachsenen, frisch getöteten Tier die beiden Uterushörner, zerlegen jedes der beiden langen Hörner in mehrere annähernd gleich große, etwa 1 cm lange Stücke, spalten ein Stück sorgfältig der Länge nach in zwei annähernd gleiche Hälften, während die übrigen Stücke zunächst ohne weitere Behandlung in Tyrodelösung auf Eis gestellt werden, wo sie über 5 Tage ihre Brauchbarkeit bewahren. Die eine der beiden Spaltheilften des Uterushornstückes wird nun an beiden Enden mit hakenförmig gebogenen Silberdrähten durchstoßen, der eine Haken an einem rechtwinklig gebogenen kapillaren Glasrohr befestigt, der zweite mittels eines Seidenfadens mit dem Registrierhebel verbunden. Das derart montierte Uterusstück wird nun in eine mit 100 ccm Tyrodelösung gefüllte Küvette versenkt, die in ein Paraffinbad von konstant bleibender Temperatur (39 bis 40°) eingehängt ist. Die Durchlüftung der Lösung erfolgt vermittels der Aufhängungskapillare, durch die man aus einem Gasometer Sauerstoff- oder Luftblasen in mäßigem Tempo aufsteigen läßt. Die zweite Spaltheilfte des gleichen Uterushornstückes wird in gleicher Weise in einen zweiten Behälter versenkt. Die durch die vorangegangenen Manipulationen gereizten Uterushornstücke zeigen zunächst unregelmäßige Kontraktionen, die durch die Registrierhebel auf eine mit berußtem Papier überzogene rotierende Trommel übertragen werden. Die Apparaturen werden natürlich so gestellt, daß die Aufzeichnungen in verschiedener Höhe auf der Schreibfläche erfolgen, sich also nicht gegenseitig überkreuzen und verdecken können. Sobald sich die beiden Muskeln beruhigt haben, ermitteln wir durch Zugabe einer verdünnten Adrenalinlösung jene Adrenalinosis, welche eine mittlere Kontraktion herbeiführt. Die zur Auslösung einer mittelstarken Kontraktion erforderliche Adrenalinosis variiert nicht nur bei den Uterushörnern verschiedener Tiere, sondern sogar bei den verschiedenen Stücken ein und desselben Uterushornes; nur die beiden Spaltheilften eines Stückes verhalten sich vollkommen gleich. So muß bei allen Versuchen für ein jedes Teilstück des Uterushornes die Adrenalinempfindlichkeit erneut festgestellt werden. In einem meiner Versuche lösten 0.02 mg Adrenalin in 100 ccm Tyrode (1 : 5 000 000) eine kräftige Muskelkontraktion aus. Nachdem man die beiden Muskelpräparate mit Tyrodelösung ausgewaschen hat, wird

die Prüfung mit der für brauchbar erachteten Adrenalinlösung wenigstens einmal wiederholt. Erhalten wir im zweiten Versuch den gleichen Ausschlag, dann bringen wir das eine Muskelpräparat nach erneutem Auswaschen mit Tyrode in eine Lösung des zu untersuchenden Mutterkornpräparates, in meinem Falle in eine Lösung des Kulturauszuges in Tyrode, das andere Präparat in eine Ergotaminbitartratlösung bekannter Konzentration. Genau 10 Minuten nach Zugabe der Lösungen (die Zeit muß exakt eingehalten werden) wird die für die Präparate ermittelte Adrenalinlösung erneut geprüft.

Das Ergebnis dieser Prüfung veranschaulicht uns am deutlichsten Abb. A. Die obere Aufzeichnung rührt von jenem Muskel her, den wir mit der reinen Alkaloidlösung als Test zusammengebracht haben, die untere Aufzeichnung dagegen von dem zweiten Muskel, auf den wir das zu prüfende Extrakt haben einwirken lassen. Links sehen wir bei beiden Aufzeichnungen eine plötzlich aufsteigende Kurve, hervorgerufen durch eine Kontraktion des Muskels, die ausgelöst worden ist durch Zugabe von 0.02 mg Adrenalin zur Tyrodelösung.

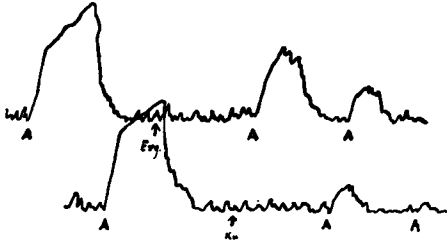


Abb. A.

Die Kurven stimmen in beiden Fällen genau überein. Plötzlich sinken diese Kurven bis zur ursprünglichen Höhe herab, ein Zeichen dafür, daß die Muskeln in den erschlafften Zustand zurückgekehrt sind. Erreicht wurde diese Muskelerschlaffung durch Auswaschen der Präparate mit frischer, adrenalinfreier Tyrodelösung. Der Zustand der Muskeln wurde durch Zugabe von 0.3 ccm einer Ergotaminbitartratlösung 1:40 000 resp. von 0.3 ccm eines Auszuges einer Maltose-Pepton-Kultur nicht wesentlich verändert. Nach 10 Minuten langer Einwirkung der Secalealkaloide wurde in jedes Bad die zu Beginn des Versuches als wirksam erkannte Adrenalinlösung gegeben, also 0.02 mg Adrenalin. Wir sehen die Wirkung des Adrenalins nach Vorbehandlung des Muskels mit Secalealkaloiden deutlich vermindert. Die Minderung der Adrenalinwirkung ist in der oberen Reihe weniger stark ausgeprägt als in der unteren Reihe. Noch deutlicher tritt dieser Unterschied in Erscheinung, wenn man die Adrenalin-Tyrode-Lösung durch eine frische Tyrodelösung ersetzt und erneut 0.02 mg Adrenalin hinzugibt. Der mit dem Kulturextrakt behandelte Muskel zeigt jetzt fast keine Adrenalinwirkung, während der mit Ergotaminbitartrat behandelte Muskel noch eine deutliche Kontraktion aufzeichnet. Dieser Versuch beweist, daß 0.3 ccm der unbekannteren Extraktlösung mehr

spez. Alkaloide enthalten als 0.3 ccm einer Ergotaminbitartratlösung 1 : 40 000. In den sich anschließenden Versuchen mit den gleichen Muskeln nach gründlichem Auswaschen sowie mit den Spalhälften neuer Uterushornstücke wurden steigende Mengen Ergotaminbitartratlösung gebraucht, bis die Adrenalinhemmung in beiden Muskeln gleich stark in Erscheinung trat. Dies war der Fall bei 0.3 ccm einer Lösung 1 : 25 000 Ergotaminbitartrat. Den Beweis hierfür bringen uns die Kurven in Abb. B. Zur Auslösung einer submaximalen Adrenalincontraktion genügten hier schon 0.01 mg Adrenalin auf 100 ccm Tyrode. Die Zugabe von 0.3 ccm der Ergotaminbitartratlösung resp. des Kulturauszuges bewirkte, daß die gleiche Adrenalinindosis eine nur schwache, aber in beiden Versuchen gleich starke Kontraktion hervorrief. Nach sorgfältigem Auswaschen der Präparate wurde in jedes Bad 0.5 ccm von jeder Lösung gegeben; die Adrenalinwirkung war jetzt in beiden Fällen aufgehoben. Eine weitere Prüfung mit je

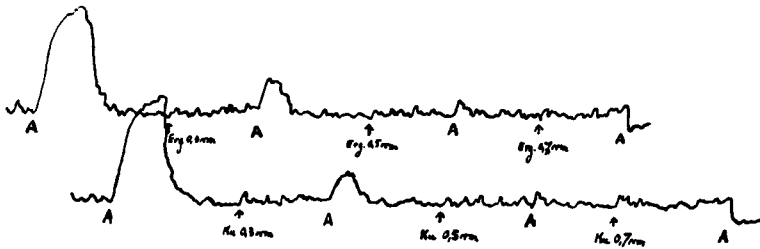


Abb. B.

0.7 ccm Lösung ließ in beiden Fällen eine deutliche Umkehr, also Erschlaffung des Uterusstreifens, durch Absinken der Kurve nach unten erkennen.

Die Extraktlösung war aus der Kultur in ähnlicher Weise hergestellt worden wie die Alkaloidlösungen zur kolorimetrischen Wertbestimmung. Der Äthersoxhletextrakt war vorsichtig auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand mit 50 ccm n_{20}^{20} Salzsäure aufgenommen. Da 0.3 ccm dieser Lösung genau so stark wirkten wie 0.3 ccm einer Lösung 1 : 25 000 Ergotaminbitartrat, diese Lösung aber 0.016 mg enthielt, entsprach die aus der Kultur gewonnene Alkaloidmenge bezüglich ihrer Wirksamkeit 2.67 mg. Dieser Wert liegt nur etwas über dem der kolorimetrischen Methode. Auf dem hier aufgezeichneten Wege wurde noch die biologische Wirksamkeit einiger anderer Pilzkulturen ermittelt. Die Wirksamkeit der Kultur Maltose-Asparagin entsprach 1.8 mg, Maltose-Gelatine 1 mg und Maltose-Leucin 1 mg Ergotaminbitartrat.

Eine genaue Übereinstimmung mit den Ergebnissen der kolorimetrischen Methode konnte wohl nicht erzielt werden, immerhin ergab sich doch aber insofern eine Übereinstimmung, als die Maltose-Pepton-Kultur auch im biologischen Versuch den höchsten, die Maltose-Leucin-Kultur den niedrigsten Wirkungswert besaß.

Es wäre verfrüht, schon heute auf Grund der wenigen bisher vorliegenden Versuche über den praktischen Wert und Nutzen einer Mutterkornkultur auf saprophytischen Nährböden zu diskutieren oder gar Rentabilitätsberechnungen für eine evtl. industrielle Verwertung anzustellen; denn weitere Versuche mit Kulturen auf Nährböden anderer Zusammensetzung könnten uns sehr wohl noch große Überraschungen bringen. Es ist nicht anzunehmen, daß wir mit der von uns gewählten Zusammensetzung Maltose-Pepton gerade den für das Myzelwachstum und die Alkaloidbildung günstigsten Nährboden getroffen haben, dagegen ist es sehr wahrscheinlich, daß durch systematische Forschung Nährböden gefunden werden, die einen doppelten oder gar vielfachen Ertrag verbürgen. Abgesehen davon, daß man noch andere Kohlehydrate und organische Stickstoffverbindungen auf ihre Eignung prüfen sollte, müßte vor allem der Einfluß von Schwermetallsalzen auf das Pilzwachstum und die Alkaloidbildung sorgfältig untersucht werden. Es ist wiederholt gezeigt worden, daß Eisen, Zink, Mangan und Kupfer bei Mikroorganismen als „Reizstoff“ fungieren, indem sie in außerordentlich geringen Konzentrationen das Wachstum günstig beeinflussen. Die Untersuchungen hätten sich aber nicht nur auf diese „anorganischen Vitamine“ zu beschränken, wie man diese Reizstoffe nennen könnte, sondern müßten ausgedehnt werden auf all jene organischen Stoffe, von denen wir wissen, daß sie in geringen Konzentrationen das Wachstum höherer oder niederer Organismen beeinflussen. Zu denken wäre hier einmal an die verschiedenen Hormone und Vitamine, dann aber auch an die leicht und billig zu beschaffenden Saponine.

646. Benno Reichert:

Über die Inhaltsstoffe von *Verbena officinalis* L.

I. Mitteilung: Die Identität des Verbenalins mit Cornin.

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Berlin.)

Eingegangen am 15. Mai 1935.

Vor längerer Zeit hat L. B o u r d i e r in dieser Zeitschrift¹⁾ über das Verbenalin, das kristallisierte Glukosid der *Verbena officinalis* L., berichtet. Nach Untersuchungen des Forschers liegt im Verbenalin ein linksdrehendes, durch Emulsin spaltbares Glukosid von der Formel $C_{17}H_{24}O_{10}$ ²⁾ vor, dessen Zucker aus d-Glukose besteht.

¹⁾ Arch. Pharmaz. 246, 272 (1908).

²⁾ Im Original fälschlich $C_{17}H_{25}O_{10}$ angegeben.