

## Zur biologischen Wirkung der Polyporsäure. Toxikologische und biochemische Bearbeitung von zwei Vergiftungsgeschehen mit dem Zimtfarbenen Weichporling (*Hapalopilus rutilans*)

J. LANGNER

Institut für Medizinische Immunologie, Fachbereich Medizin der Martin-Luther-Universität Halle

S. BAUER

Institut für Industrietoxikologie, Fachbereich Medizin der Martin-Luther-Universität Halle

J. MIERSCH

Sektion Biowissenschaften, Wissenschaftsbereich Biochemie,  
Pflanzenbiochemische Abteilung, Martin-Luther-Universität Halle

F.-W. RATH

Institut für Pathologie, Fachbereich Medizin der Martin-Luther-Universität Halle

Eingegangen am 28.4.1992

Langner, J., S. Bauer, J. Miersch & F.-W. Rath (1992) – On biological influence of polyporic acid. Toxicological and biochemical investigations of two intoxications due to ingestion of the mushroom *Hapalopilus rutilans*. Z. Mykol. 59 (2): 173–184.

**Key Words:** Dihydroorotat-Dehydrogenase, mushroom poisoning, polyporic acid, *Hapalopilus rutilans*.

**Summary:** In 1986 and 1987 three people suffered from an intoxication by the wood-growing mushroom *Hapalopilus rutilans*. The patients showed dysregulation of central nervous functions as well as kidney dysfunction. The mushroom is known for its high content of a dihydroxy quinone, polyporic acid, which is an inhibitor of plant dihydroorotate dehydrogenase. We could show in rats after feeding polyporic acid ulcerations of the stomach, nephrotic lesions in kidney tubules, increase in serum concentrations of urea and creatinine as well as sensoric and motoric dysregulations. For the first time could be shown an inhibition of rat liver mitochondrial dihydroorotate dehydrogenase by  $10^{-4}$ – $10^{-6}$  M polyporic acid, thus polyporic acid poisoning will be followed by impairment of de novo synthesis of pyrimidines.

It is concluded that the intoxication seen after ingestion of the mushroom *Hapalopilus rutilans* is due to its high content of polyporic acid, which by inhibiting dihydroorotate dehydrogenase followed by inhibition of RNA synthesis might well be responsible for the clinical symptoms.

**Zusammenfassung:** Ausgehend von zwei Vergiftungsgeschehen mit dem Zimtfarbenen Weichporling, *Hapalopilus rutilans*, ist die toxikologische und biochemische Wirkung der Polyporsäure, die zu ca. 20 % des Trockengewichtes in diesem Pilz vorkommt, untersucht worden. Durch Verabfolgung von Polyporsäure an Ratten wurden Symptome erzielt, die mit denen der Pilzvergiftungen weitgehend identisch waren: zentralnervöse Störungen und Nierenversagen. Die bei den Ratten aufgetretenen Magenulcera sind bei den Patienten nicht beobachtet worden. Autoptische, histologische und klinisch-chemische Ergebnisse der mit Polyporsäure behandelten Tiere machen das Nierenversagen als Todesursache der verendeten Tiere wahrscheinlich. Die LD<sub>50</sub> lag bei 640 mg/kg Körpergewicht. Bei mit Mitochondrien angereicherten Präparationen aus Rattenlebern wurde eine starke Hemmung der mitochondrialen Dihydroorotat-Dehydrogenase gemessen (bei  $10^{-6}$  bis  $10^{-4}$  M Polyporsäurekonzentration), während die mitochondriale Atmung durch  $10^{-4}$  M Polyporsäure unbeeinflusst blieb.

Die Ergebnisse werden dahingehend interpretiert, daß die durch Polyporsäure verursachte Enzymhemmung über die Beeinträchtigung der de-novo-Pyrimidinsynthese mit ihrer Auswirkung auf die RNS-Synthese für die beobachteten Vergiftungserscheinungen nach Verzehr des Zimtfarbenen Weichporlings verantwortlich gemacht werden kann.

## Danksagung

Frau Mila Herrmann (Halle) danken wir für die Überlassung von Pilzmaterial und weiterführende Anregungen zu dieser Arbeit.

## Einleitung

Polyporsäure ist als Inhaltsstoff des Zimtfarbenen Weichporlings (*Hapalopilus rutilans* (Pers.: Fr.) Karst. = *Hapalopilus nidulans* (Fr.) Karst.) seit über 100 Jahren bekannt. Sie ist in diesem Pilz als sekundärer Metabolit zu mehr als 20 % der Trockenmasse enthalten. 1926 wurde ihre Struktur von KÖGL (1926) als 2,5-Dihydroxy-3,6-Diphenylbenzophenon aufgeklärt (siehe Abbildung 1). Auch in anderen holzbewohnenden Pilzarten [*Lopharia papyracea*, *Phanerochaete filamentosa* (GILL et al. 1987)] und der Flechte *Stricta coronata* Mull Arg. (CAIN 1961) ist Polyporsäure (PS) enthalten. CAIN (1961, 1963, 1964, 1966) hat die tumorhemmende Wirkung der Polyporsäure und einer größeren Anzahl von Derivaten untersucht, ohne daß aus diesen Untersuchungen eindeutige Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus abgeleitet oder medizinisch anwendbare Resultate erhoben werden konnten.

Eine Hemmwirkung der Polyporsäure für mitochondriale Dihydroorotat-Dehydrogenase (DHO-DH) aus Kartoffelknollen ist von MIERSCH (1986) beschrieben worden und stellte den Ausgangspunkt für unsere Überlegungen und Experimente zur Aufklärung der Giftwirkung bei den beobachteten Pilzvergiftungen von 1986 und 1987 (BAUER et al. 1989, HERRMANN et al. 1989) dar.

Der Zimtfarbene Weichporling (ZWp) ist ein holzbewohnender Pilz (bevorzugt an Eiche, Birke, Erle, Hasel u. a.). Er besitzt eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Leberpilz, auch Ochsenzunge (*Fistulina hepatica*) genannt, ist aber zäh und nicht schmackhaft. Außer den bereits erwähnten Vergiftungen sind in der Literatur bisher keine Vergiftungsgeschehen mit diesem Pilz beschrieben worden. Das klinische Bild der beiden beobachteten Vergiftungsgeschehen zeigte in erster Linie eine Störung der Nierenfunktion, aber auch eine deutliche zentralnervöse Symptomatik (vergl. HERRMANN et al. 1989).

Über toxikologische Untersuchungen an Ratten und biochemische Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus soll hier berichtet werden. Die Ergebnisse lassen erkennen, daß die Giftwirkung des ZWp offenbar durch den Gehalt an Polyporsäure bewirkt wird und über deren Hemmwirkung auf die DHO-DH vermittelt sein könnte.

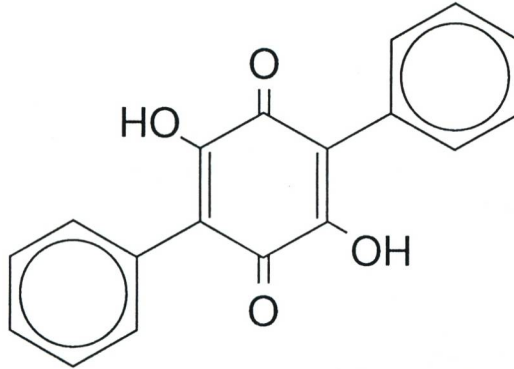
## Material und Methoden

Untersuchungen zur Ermittlung der oralen Toxizität der PS und zur Wirkungssymptomatik an der Ratte.

## Tiermaterial und Haltungsbedingungen

Für den Versuch standen konventionell gehaltene männliche Wistarratten eines Koloniezuchtstammes (Institut für Industrietoxikologie der MLU Halle) zur Verfügung. Das Gewicht der Tiere lag zu Versuchsbeginn (60. Lebenstag) bei  $248,5 \pm 2,0$  g. Die Tiere wurden entsprechend der Gruppeneinteilung in Käfigen (PVC-Schalen der Größe III, Oberteil



Abb. 1: Polyporsäure (Orygmeasäure) Summenformel  $C_{18}H_{12}O_4$ 

Drahtgitter) auf Hobelspänen gehalten. Im Versuchsraum herrschten eine Temperatur von  $22 \pm 2^\circ C$  und eine relative Luftfeuchte von  $55 \pm 15 \%$ . Es wurde ein künstlicher Hell-Dunkel-Rhythmus (12/12 h) eingehalten. Die Versuchstiere hatten vor Versuchsbeginn eine Akklimatisationsphase von 7 d. Es stand pelletiertes Standardfutter und Leitungswasser (Qualität Trinkwasser) in Trinkflaschen ad libitum zur Verfügung.

### Testsubstanz und Applikation

PS wurde aus getrocknetem Pilzmaterial nach KÖGL (1926) präpariert. Sie war dünn-schichtchromatographisch rein. Nach Kristallisation aus Aceton ergaben sich braune Blättchen, die bei  $304^\circ C$  sublimierten (nach KÖGL 1926:  $F = 304^\circ C$ ). Typisch ist die Violettfärbung der PS im Alkalischen.

Die Substanz wurde mittels starrer Schlundsonde per os als frisch bereitete Suspension in einer 0,5%igen Traganth-Lösung appliziert. Das Applikationsvolumen betrug einheitlich 5 ml/kg KM. Die Tiere der Kontrollgruppe bekamen 5 ml Traganth-Lösung/kg KM. In der Versuchsserie 1 zur Ermittlung des Wirkungsbildes der PS-Vergiftung wurden 5 Gruppen zu je 4 Tieren gebildet, die 0, 100, 200, 400 bzw. 800 mg PS/kg Körpermasse erhielten. Mit der Versuchsserie 2 wurden die  $LD_{50}$  und das 95%-Vertrauensintervall nach THOMPSON (1947) und WEIL et al. (1952) ermittelt. Es wurden 6 Gruppen zu je 5 Tieren mit den Dosierungen 0, 200, 320, 500, 800 und 1250 mg PS/kg Körpermasse behandelt. Die Nachbeobachtungszeit betrug im ersten Versuch 3 Tage, im zweiten 14 Tage.

### Untersuchungsmethoden

Die Ermittlung der Körpermassen erfolgte durch Einzeltierwägung an fünf Tagen der Woche. Futter- und Wasserverbrauch wurden gruppenweise an fünf Tagen der Woche registriert. Die Blutproben wurden unter Hexobarbitalnarkose (50 mg/kg KM i. p.) durch Herzpunktion am offenen Thorax gewonnen. Zur Serumgewinnung wurden die Blutproben ohne Zusatz gerinnungshemmender Stoffe zentrifugiert (3600 g, 10 min). Die hämatologischen und serumanalytischen Untersuchungen erfolgten nach Standardmethoden.

Die Messung von Blutdruck und Herzfrequenz erfolgte durch Katheterisierung der A. femoralis unter Hexobarbitalnarkose. Das Verhaltensmuster wurde anhand der von BUSCHMANN et al. (1984) beschriebenen Teste (Mobilität, optische Fixierung, Hangelreflex,

Gleichgewichtsverhalten, Fellpflege, Seiten-/Rückenlage, Schreckreaktion, Schmerzreaktion und Pinna-Reflex), die Vergiftungssymptome vor allem in bezug auf Atmung, Augen, Speichelfluß, Kot, Krämpfe und Tremor jeweils 2, 4, 8, 12, 24, 48 und 72 h p. appl. eingeschätzt.

Nieren, Herz, Lebern und Lungen von Versuchstieren, die im Vorversuch unter hoher PS-Dosierung akut verendet waren, wurden nach Formalinfixierung und HE-Färbung pathomorphologisch bewertet.

### **Meßwerterfassung und Auswertung**

Alle Werte wurden als arithmetische Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler angegeben. Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte mit dem parameterfreien Test nach Wilcoxon (u-Test). Das Signifikanzniveau betrug einheitlich  $p < 0,05$ .

### **Einfluß der PS auf die mitochondriale Atmung und die DHO-DH**

Lebern von ethermarkotisierten Ratten wurden nach Pfortaderperfusion mit 0,14 M NaCl-Lösung entnommen, mit derselben Lösung abgespült und mit 10 Vol. Isolationsmedium nach GREENAWALT (1974) (70 mM Saccharose, 200 mM Mannitol, 2 mM HEPES, 0,5 mg/ml Humanserumalbumin) unter Eiskühlung in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator (Teflon/Glas) homogenisiert. Die differentielle Zentrifugation bei 4°C zur Gewinnung einer angereicherten Mitochondrienpräparation folgte dem Schema von GUERRA (1974). Diese Präparation diente als Enzymquelle für die Bestimmung der DHO-DH nach MIERSCH (1986) [modifizierte Methode nach CALGANETTO et al. (1980)] beschrieben. Ein Kontrollversuch bestimmte die O<sub>2</sub>-Aufnahme in Anwesenheit von 200 µM ADP. Die Proteinbestimmung erfolgte mit der Mikromodifikation der Lowry-Methode nach LANGNER et al. (1971).

## **Ergebnisse**

### **Untersuchungen zur oralen Toxizität und zur Wirkungssymptomatik von PS**

Nach peroraler Applikation von PS verstarb in der ersten Versuchsserie mit niedriger angesetztem Dosierungsschema lediglich ein Tier in der 4. Dosierungsgruppe (400 mg/kg KM) 48 h p. appl. Im LD<sub>50</sub>-Versuch kam bis zur Dosis von 320 mg/kg KM kein Tier ad exitum. Die Mortalität in den höheren Dosisgruppen und die Todeszeiten sind in der Tabelle 1 aufgeführt. PS ist mit einer LD<sub>50</sub> von 640 (490–830) mg/kg KM als mäßig toxisch (CASARETT et al. 1975) einzustufen.

Die Entwicklung der Körpermassen nach Applikation von PS ist in Abbildung 2 für alle Dosisgruppen der ersten Versuchsserie, bezogen auf die jeweiligen Ausgangskörpermassen, dargestellt. Futter- und Wasserverbrauch ist in Tabelle 2 enthalten. PS führte bei oraler Applikation dosisabhängig (ab 100 mg/kg KM) zu einer statistisch verifizierbaren Minderzunahme der Versuchstiere. Ursache dafür dürfte die stark eingeschränkte Futter- und Wasseraufnahme sein. Diese war bis 3 d p. appl. nur in der Dosisgruppe 5 nicht reversibel.

PS führte insgesamt zu einer Schwächung der Tiere und beeinträchtigte in den Verhaltensuntersuchungen dosisabhängig vor allem die Parameter der Motorik. Daneben kam es zu Ausfallerscheinungen in der optischen Fixierung und der Schreckreaktion. In der Gruppe 2 (100 mg/kg KM) wurden keine Verhaltensänderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet. In der Gruppe 3 (200 mg/kg KM) traten 4 h p. appl. Ausfallerscheinungen in



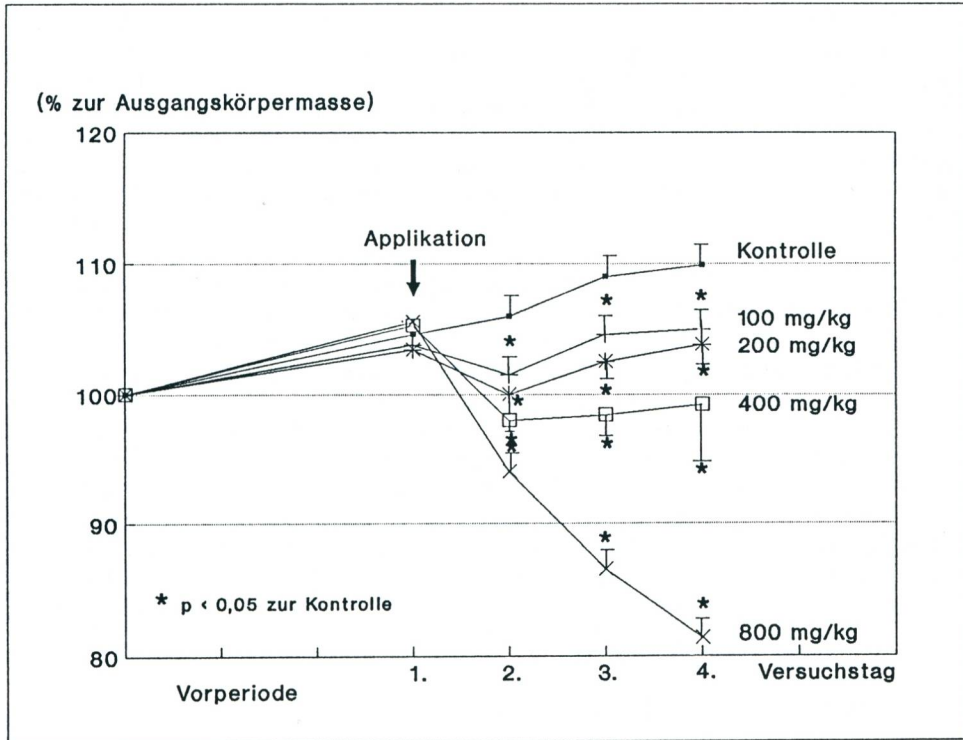


Abb. 2: Körpermasseentwicklung nach Applikation von Polyporsäure (1. Versuchsserie). Angaben in Prozent des Anfangswertes am 1. Versuchstag.

der Mobilität und beim Hangelreflex auf (1 bis 2 Tiere). Bei 400 mg/kg KM (Gruppe 4) waren schon 2 h p. appl. die Mobilität und der Hangelreflex gestört. Die Tiere zeigten starke Ataxieerscheinungen (8 h p. appl. alle Tiere). 48 h p. appl. war die optische Fixierung bei 2 von 3 überlebenden Tieren eingeschränkt. In der höchsten Dosisgruppe (800 mg/kg KM) waren Ausfälle in der Mobilität und im Hangelreflex ab 4 h p. appl. bis zum Versuchsende zu beobachten. 24 h p. appl. bis zum Versuchsende wurden Ausfälle bei der optischen Fixierung ermittelt. Alle Tiere dieser Gruppe reagierten 72 h p. appl. nicht mehr mit Schreck. Eine statistische Auswertung der Verhaltensuntersuchungen erfolgte aufgrund der geringen n-Zahlen nicht.

Neben den beschriebenen Verhaltensänderungen konnten in den Dosisgruppen 2 und 3 keine weiteren äußeren Symptome einer akuten Vergiftung beobachtet werden. Alle Tiere der Gruppen 4 und 5 hatten zum Ende der Beobachtungszeit blutig verkrustete Augenwinkel.

Die Sektion der Tiere und die makroskopische Beurteilung der inneren Organe ergab nur in der Gruppe 5 (800 mg/kg KM) pathomorphologische Veränderungen. Diese betrafen die Mägen und zum Teil Nieren und Lebern. Die Mägen zeigten bei allen 4 Tieren Ulcera unterschiedlicher Größe in der Magenblase und im Fundus. Die Befunde lassen auf eine akute Schädigung der Magenschleimhaut schließen, was auch die verminderte Nahrungs-

aufnahme erklärt. Feingewebliche Untersuchungen der Lebern, Nieren, Herzen und Lungen von Tieren, die im Vorversuch unter hoher PS-Dosierung (1 g/kg KM) akut verendet waren, ergaben die folgenden Befunde: Alle Organe zeigten eine akute Hyperämie. An den Herzen und Lungen gab es keine darüberhinausgehenden Veränderungen. Die Nieren wiesen in unterschiedlicher Ausprägung das Bild einer akuten, zum Teil nekrotisierenden Nephrose auf. Der Befund wird auch durch die labordiagnostischen Werte gestützt (siehe Tabelle 4). Von den degenerativen Veränderungen waren besonders die Hauptstückepithelien betroffen. Nach dem histologischen Bild ist ein akutes Nierenversagen als Todesursache denkbar. In den Lebern fand sich eine Ansammlung von Granulozyten im Bereich der Cholangiolen als Zeichen einer Ausscheidungscholangiolitis, infolge einer toxisch induzierten Begleitentzündung. Die relativen Organmassen sind in Tabelle 3 enthalten. 72 h p. appl. konnten keine Einflüsse der Testsubstanz auf die ermittelten Herz-Kreislauf-Parameter registriert werden. Von den hämatologischen und serumanalytischen Parametern waren lediglich die Serum-Harnstoff- und Kreatinin-Konzentrationen in der höchsten Dosisgruppe signifikant erhöht und die Serumelektrolyte Kalium und Kalzium signifikant niedriger. Die Zahl der Leukozyten war mit steigender Dosis tendenziell erhöht, ohne jedoch Signifikanzniveau zu erreichen. Im Differentialblutbild war der Anteil an segmentkernigen Granulozyten dosisabhängig erhöht, der Anteil an Lymphozyten nahm dagegen stark ab. Beide Befunde wurden in der höchsten Dosisgruppe signifikant. Die Serumenzyme ALAT, ASAT, LDH und LAP verblieben im Bereich der Kontrollgruppe. Unbeeinflusst waren auch Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration und Erythrozytenzahl. Tabelle 4 enthält die Werte für die durch PS beeinflussten Parameter.

### Hemmung der DHO-DH durch Polyporsäure

Tabelle 5 zeigt, daß PS ( $10^{-4}$  und  $10^{-5}$  M) ohne nennenswerten Einfluß auf den Sauerstoffverbrauch bleibt. Die für diese Messung eingesetzte mitochondrienangereicherte Rattenleberpräparation zeigte eine respiratorische Kontrolle von 2,6 und ist für die getroffene Aussage geeignet.

Tabelle 6 zeigt die konzentrationsabhängige Hemmung der DHO-DH durch PS im Bereich zwischen  $10^{-6}$  und  $10^{-4}$  M. In einem Parallelversuch mit 1,6 statt 3,9 mg Protein im Ansatz ergab sich mit  $10^{-4}$  M PS 100 % Hemmung und mit  $10^{-5}$  M PS eine 95%ige Hemmung der Enzymaktivität.

### Diskussion

Die mitgeteilten Befunde lassen die Interpretation zu, daß für die nach Verzehr des Zimtfarbenen Weichporlings beobachteten Vergiftungserscheinungen die Polyporsäure, die in diesem Pilz etwa 20 % der Trockenmasse bildet, verantwortlich gemacht werden kann. Das klinische Bild der 1986 und 1987 aufgetretenen Vergiftungen war durch zentralnervöse Störungen (Seh- und Koordinationsstörungen, im Elektroenzephalogramm unspezifische Dysregulationen über allen Hirnbereichen) und Nierenversagen gekennzeichnet. Die Inkubationszeit betrug bei beiden Vergiftungsgeschehen, an denen eine Erwachsene und zwei Kinder beteiligt waren, 12 bis 13 Stunden, wie sie ähnlich bei den Vergiftungen durch die vor allem auf Leber und Niere wirkenden Phallo- und Amatoxine der Knollenblätterpilze beobachtet wird.

Die im akuten Toxizitätstest an der Ratte beobachteten Erscheinungen und Symptome stehen in nahezu jeder Beziehung in Einklang mit den klinischen Beobachtungen am Menschen. Bei den Verhaltenstests fällt auf, daß sie bereits frühzeitig und in den niedrigeren



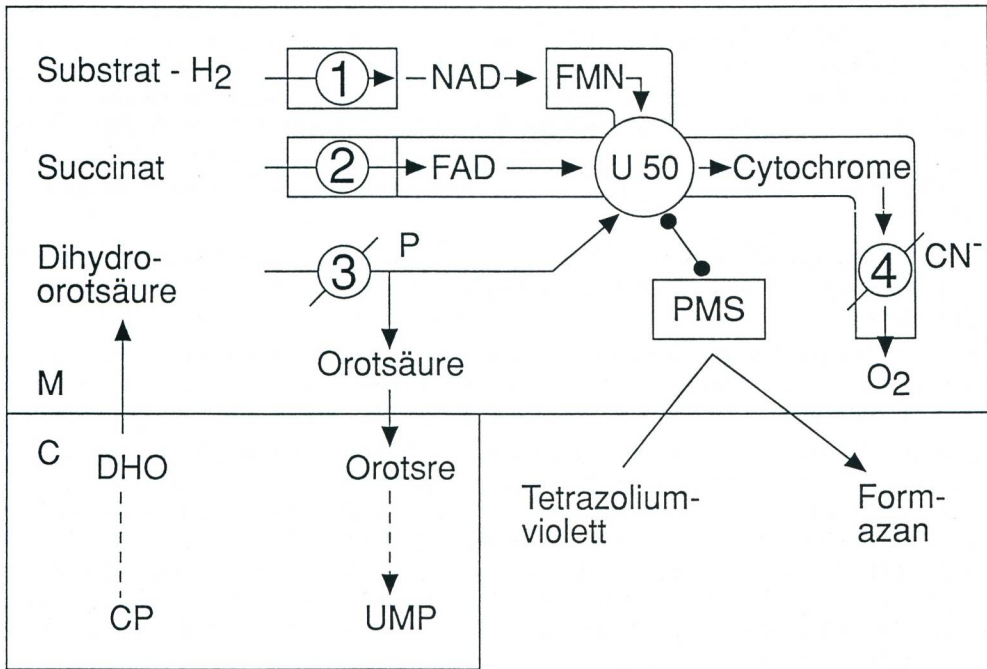


Abb. 3: Schematische Darstellung der Atmungskette und der Pyrimidin-Neusynthese

- |   |                                   |      |                     |
|---|-----------------------------------|------|---------------------|
| 1 | NAD-abhängige Dehydrogenasen      | U 50 | Ubichinon 50        |
| 2 | Succinat-Dehydrogenase            | PMS  | Phenazinmethosulfat |
| 3 | Dihydroorotat (DHO)-Dehydrogenase | UMP  | Uridinmonophosphat  |
| 4 | Cytochrom c-Oxidase               | C    | Cytosol             |
| P | Polyporsäure                      | M    | Mitochondrium       |

Dosisgruppen, die noch kaum andere Erscheinungen auslösen, auftreten. Es erscheint möglich, daß für diese Symptome ein anderer Wirkungsmechanismus als der die Nierenschädigung auslösende verantwortlich ist. Darüber müßte eine detailliertere Studie Auskunft geben.

Das akute Vergiftungsbild in der höchsten Dosisgruppe (Versuchsserie 1, 800 mg/kg KM) ist gekennzeichnet durch Magenulzerationen (hierfür keine Parallelen beim Menschen), womit unseres Erachtens auch die verminderte Nahrungsaufnahme und der damit verbundene Gewichtsverlust in Zusammenhang steht. Die ermittelten Organmassen sind für die weitere Beurteilung weniger aufschlußreich als die anderen Laborparameter. CAIN (1966) erwähnt nur beiläufig eine Gewichtsverminderung der Milzen von mit PS behandelten Mäusen, die in unserer Studie nicht gefunden wurde, sowie andere Erscheinungen (Wasserretention, Veränderungen des Natrium-Ionen-Verhältnisses im Urin) die auch auf die Niere als das für PS empfindlichste Organ hindeuten.

Die Nierenschädigung steht in unserer Untersuchung hinsichtlich der Schwere der Symptome neben den Magenulcera an zweiter Stelle, widerspiegelt sich in den Laborbefunden (Kreatinin, Harnstoff, Elektrolyte) aber nur in der höchsten Dosisgruppe (800 mg/kg, 1. Versuchsserie). Versucht man, diese Dosis mit der bei Verzehr von Frischpilzen aufge-

nommenen PS-Menge und deren Giftwirkung auf die Nieren zu vergleichen, so scheint es so zu sein, daß die Wirkungsschwelle im Menschen niedriger liegt als bei der Ratte. 800 mg PS/kg KM entsprechen etwa 20 g Frischpilz/kg Ratte. Rechnet man einen Feuchtigkeitsverlust beim Braten der Pilze von ca. 50 % ein, so hatte man diese PS-Menge (800 mg/kg) in 10 g Pilzgericht, d. h. ein Mensch mit 50 kg Gewicht müßte 500 g Pilzmahlzeit zu sich nehmen, um eine schwere Vergiftung zu bekommen. Das Kind mit dem schweren urämieähnlichen Zustandsbild nach Pilzverzehr soll aber nur 2 Löffel Pilzgericht gegessen haben.

Auffällig ist, daß die Serumenzyme in unserer Untersuchung keine signifikante Reaktion zeigten, während sie bei dem erwähnten Kind auf ein Mehrfaches des Normalen angestiegen waren.

Die von uns gefundenen Veränderungen im Blutbild (Granulozytose mit Linksverschiebung) sind wohl als Ausdruck der entzündlichen Veränderungen am Magen einzuordnen und zu verstehen.

Bei der Frage nach dem auslösenden molekularen Mechanismus der Giftwirkung könnte die von MIERSCH (1986) mitgeteilte Hemmung der DHO-DH durch PS Hinweise geben. Abb. 3 verdeutlicht die Stellung dieses Enzyms auf dem Wege der Pyrimidinsynthese zum Uridinmonophosphat. In tierischen Zellen (MILLER und CURRY 1969), *Neurospora* (MILLER 1971) und Pflanzen (MIERSCH 1986, MIERSCH et al. 1986) oxidiert die membrangebundene mitochondriale DHO-DH Dihydroorotat zu Orotat und überträgt wahrscheinlich Elektronen und Protonen auf Ubichinon 50 (Abb. 3). Es blieb zu prüfen, ob die am Kartoffelenzym beobachtete Hemmung auch mit dem tierischen Enzym nachweisbar ist. Die vorgelegten Ergebnisse (Tab. 6) bestätigen diese Vermutung. Die erzielbaren Hemmungen machen eine Beeinträchtigung der de-novo-Pyrimidin-Synthese und damit einhergehende Störungen im Nukleinsäurestoffwechsel, die bei Langzeitwirkung auch entsprechende Zellschädigungen nach sich ziehen, durchaus wahrscheinlich. Die Entstehung des Vergiftungsbildes beim Phalloides-Syndrom wird in ähnlicher Weise, durch Hemmung der nukleolären RNS-Polymerase verursacht, diskutiert (FLAMMER 1980; LANGNER 1972). Noch nicht entschieden ist die Frage nach dem Hemmungstyp (reversibel/irreversibel) und nach der Verweildauer der PS im tierischen Organismus nach einmaliger Zufuhr. Eine Ausscheidung über die Nieren in möglicherweise unveränderter Form ist offenbar gegeben, da sowohl bei den Vergifteten als auch bei einigen Ratten eine Violettfärbung des Urins beobachtet wurde, wie sie als typische Reaktion von PS im Alkalischen auftritt.

Die von CAIN bearbeitete Antitumorwirkung könnte unseres Erachtens auch über die RNS-Synthesehemmung in Tumorzellen vermittelt sein.

Mit den vorgelegten Ergebnissen findet die Entstehung der beiden Vergiftungsgeschehen nach Verzehr des zimtfarbenen Weichporlings eine Aufklärung insofern, als 1. die Polyporsäure, als Inhaltsstoff dieses Pilzes bekannt, bei Ratten entsprechende Vergiftungsbilder erzeugt und 2. die durch PS bewirkte Hemmung der Pyrimidinsynthese, hervorgerufen durch die hier erstmals für Säugermitochondrien beschriebene Hemmung der DHO-DH, als biochemische Grundlage der Vergiftungsmanifestation in Frage kommen könnte.



## Literatur

- BAUER, S., J. LANGNER, F.-W. RATH, M. HERRMANN, J. MIERSCH, A. NAUNDORF, I. HEINROTH-HOFFMANN, P. HOFFMANN (1990) – Zur Toxizität des Pilzinhaltsstoffes Polyporsäure aus *Haplophilus rutilans*. Tag.-Ber., Akad. Landwirtsch.-Wiss. DDR, Berlin **285**, 179–182.
- BUSCHMANN, J., R. SOLECKI, R. CLAUSING (1984) – Neue Aspekte bei der Ermittlung der akuten Toxizität. Z. ges. Hyg. **30**, 573–576.
- CAIN, B. F. (1961) – Potential anti-tumour agents. Part I. Polyporic acid series. J. Chem. Soc. (London) 936–940.
- (1963) – Potential anti-tumour agents. Part II. Polyporic acid series. J. Chem. Soc. (London) 356–359.
- (1964) – Potential anti-tumour agents. Part III. Polyporic acid series. J. Chem. Soc. (London) 5472–5474.
- (1966) – Potential anti-tumour agents. Part IV. Polyporic acid series. J. Chem. Soc. (London) 1041–1045.
- CALGANETTO, A. M., G. G. VILLELA, C. P. RIBEIRO (1980) – IRCS Med. Sci. **8**, 904–905.
- CASARETT, L. J., J. DOULL – Toxicology: the basic science of poisoning. MacMillan, New York 1975.
- FLAMMER, R. – Differentialdiagnose der Pilzvergiftung, S. 12 ff., G. Fischer Verlag Stuttgart, New York, 1980.
- GILL, M., W. STEGLICH (1987) – Pigments of fungi (Macromycetes). Prog. Org. Natural Prod. **51**, 18–19.
- GREENAWALT, J. W. (1974) – The isolation of outer and inner mitochondrial membranes. Meth. Enzymol. **31**, 310–314.
- GUERRA, C. (1974) – Rapid isolation techniques for mitochondria: Technique for rat liver mitochondria. Meth. Enzymol. **31**, 299–305.
- HERRMANN, M., W. HERRMANN, J. LANGNER, S. BAUER, I. HEINROTH-HOFFMANN, F.-W. RATH (1989) – Der Zimtfarbene Weichporling *Haplophilus rutilans* verursachte zwei Vergiftungsgeschehen. Myk. Mitt. bl. (Halle) **32**, 1–4.
- HOFFMANN, P. (1987) – Cardiotoxicity testing of organic solvents by coronary ligation in closed-chest rats. Arch. Toxicol. **61**, 79–82.
- KÖGL, F. (1926) – Untersuchungen über Polyporsäure. V. Die Konstitution der Polyporsäure. Lieb. Ann. Chem. **447**, 78–85.
- LANGNER, J. (1972) – Zum Wirkungsmechanismus der Gifte von *Amanita phalloides*. Myk. Mitt. bl. (Halle) **16**, 5–10.
- , S. ANSORGE, P. BOHLEY, H. KIRSCHKE, H. HANSON (1971) – Intracellular protein breakdown. I. Activity determinations of endopeptidases using protein substrates. Acta biol. med. germ. **26**, 935–951.
- MIERSCH, J. (1986) – Einfluß von Chinonen auf die mitochondriale Dihydroorotat-Dihydrogenase aus Kartoffelnknollen-parenchym, Biochem. Physiol. Pflanzen **181**, 405–410.
- , G. J. KRAUSS, U. METZGER (1986) – Properties and subcellular localization of dihydroorotate dehydrogenase in cells of tomato suspension culture. J. Plant Physiol. **122**, 75–94.
- MILLER, R. W., J. R. CURRY (1969) – Mammalian dihydroorotate-ubiquinone reductase complex. Can. J. Biochem. **47**, 725–734.
- (1971) – Dihydroorotate-ubiquinone-reductase of *Neurospora crassa* mitochondria. Arch. Biochem. Biophys. **146**, 256–270.
- THOMPSON, W. R. (1947) – Use of moving averages and interpolation to estimate median-effective dose. I. Fundamental formulas, estimation of error, and relation to other methods. Bacterial Rev. (Wash.) **11**, 115–145.
- WEIL, C. S. (1952) – Tables for convenient calculation of median-effective dose (LD 50 or ED 50) and instruments in their use. Biometrics (Raleigh, N. C.) **8**, 249–263.

**Tab. 1:** Mortalität nach peroraler Applikationen von PS. Zweite Versuchsserie: in den niedrigeren Dosisgruppen waren keine Tiere verendet, sie werden deshalb hier nicht mit aufgeführt,

Dosis mg/kg	Dosis mg/kg	ad exitum gekommene Tiere (kumulativ) (p. appl.)							
		12 h	24 h	2 d	3 d	5 d	7 d	9 d	14 d
500	5	0	0	0	0	0	0	0	1
800	5	0	1	1	1	2	3	4	4
1250	5	0	3	4	5	5	5	5	5

**Tab. 2:** Einfluß von Polyporsäure auf Futter- und Wasserverbrauch: FU/W (g/Tier und Tag)

Gruppe	Versuchstag			
	1. – 3.	4.	5.	6.
1	31/29	27/32	28/31	25/29
2	23/28	17/19	25/31	23/27
3	20/27	13/20	17/28	21/30
4	22/29	9/16	6/28	13/23
5	21/28	6/13	1/17	2/9

**Tab. 3:** Relative Organmassen, 72 h p. appl. von Polyporsäure im Vergleich zur Kontrolle;  $\bar{x}$  ( $S_E$ ); n = 4

Gruppe	Herz mg/kg	Leber g/kg	Nieren g/kg	NN mg/kg	Magen g/kg	Milz mg/kg	Lunge mg/kg
1	2915 (46)	37,7 (0,9)	6,98 (0,22)	192,8 (6,8)	4256 (95)	2623 (126)	3844 (139)
2	2882 (74)	37,0 (1,0)	6,67 (0,23)	180,1 (19,4)	4198 (198)	2197 (125)	3822 (109)
3	2888 (82)	34,9 (1,6)	6,72 (0,24)	207,4 (18,9)	4212 (119)	2582 (217)	3788 (172)
4 <sup>1</sup>	2969 (197)	34,8 (1,4)	8,25 (0,12)	260,2* (31,5)	4577 (272)	2657 (229)	4065 (443)
5	3377* (62)	37,5 (2,5)	9,61* (0,43)	297,6* (32,8)	4706 (495)	2626 (86)	4656* (264)

<sup>1</sup> n = 3 \* p ≤ 0,05 im Vergleich zu Gruppe 1 NN = Nebennieren



**Tab. 4:** Hämatologische und serumanalytische Werte 72 h p. appl. von Polyporsäure im Vergleich zur Kontrolle; Mittelwert  $\bar{x}$  ( $S_E$ ); n = 4

Parameter	Gruppe				
	1	2	3	4	5
Leukozyten (1/ $\mu$ l)	4283 (813)	3494 (867)	2975 (293)	6933 <sup>a</sup> (2458)	14275 (5482)
Segment- kernige (%)	17,0 (4,9)	21,3 (2,6)	22,8 (2,1)	30,8 <sup>a</sup> (7,4)	64,9* (13,0)
Lymphozyten (%)	79,3 (4,5)	76,8 (1,8)	74,0 (1,5)	65,7 <sup>a</sup> (9,9)	30,0* (12,8)
Kreatinin (mg/100 ml)	2,47 (0,36)	2,35 (0,12)	2,46 (0,18)	2,86 <sup>b</sup> (0,24)	5,1 <sup>a*</sup> (0,50)
Harnstoff (mM/l)	5,28 (1,02)	5,86 (0,49)	4,11 (1,26)	4,54 <sup>b</sup> (0,74)	46,68 <sup>a*</sup> (20,10)
Kalium (mval/l)	4,49 (0,11)	4,73 (0,11)	4,66 (0,19)	3,77 <sup>b</sup> (0,47)	3,16 <sup>a*</sup> (0,21)
Kalzium (mval/l)	2,41 (0,04)	2,12 (0,27)	2,33 (0,10)	2,34 <sup>b</sup> (0,02)	1,91 <sup>a*</sup> (0,10)

Legende: <sup>a</sup>n = 3; <sup>b</sup>n = 2; \* p  $\leq$  0,05 im Vergleich zu Gruppe 1

**Tab. 5:** Messung der O<sub>2</sub>-Aufnahme durch eine mitochondrienreiche Fraktion aus Rattenleberzellen

Substrat	Konz. (mM)	O <sub>2</sub> -Verbrauch	
		(n M x mg Prot. <sup>-1</sup> x min <sup>-1</sup> )	
NADH	1	159,3	100
Malat	10	18,6	12
NADH + Polyporsäure	1 0,1	145,0	92
NADH + Polyporsäure	1 0,01	145,0	92

Die Messung erfolgte in 3 Parallelen bei 25°C. Konzentration im Ansatz (3 ml): 0,3 M Saccharose, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, 10 mM K-posphat-Puffer (pH 7,2), 0,2 mM ADP und 0,7 – 1,9 mg Protein.

**Tab. 6:** Hemmung der Diphydroorotat-Dehydrogenase aus Rattenleber durch Polyporsäure

Nr.	Ansatz	µmole Orotsäure- Bildung	Hemmung %
1.	komplett	0.426	0
2.	komplett – S	0	–
3.	komplett – E	0	–
4.	komplett + 10 <sup>-4</sup> PS	0.316	26
5.	komplett + 10 <sup>-5</sup> PS	0.365	15
6.	komplett + 10 <sup>-6</sup> PS	0.416	3
7.	komplett + 10 <sup>-7</sup> PS	0.430	0

E = pro Ansatz 50 µl mit 3,9 mg Protein; je Ansatz 3 Parallelen

Ansatz 1,5 ml: 100 µM Na-Phosphat-Puffer, pH 7,4; 0,28 µM Tetrazoliumviolett; 1 µM L-Dihydroorotsäure; 2,25 µM KCN; 0,31 µM Phenazinmethosulfat.

Die Ansätze wurden unter N<sub>2</sub> bei 40°C 30 min temperiert.





Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.  
German Mycological Society

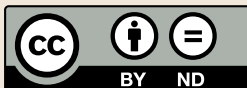
Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

[www.dgfm-ev.de](http://www.dgfm-ev.de)

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**  
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**  
(Name der Hefreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**  
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**  
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigebiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1992

Band/Volume: [58\\_1992](#)

Autor(en)/Author(s): Langner Jürgen, Bauer S., Miersch Jürgen, Rath F.-W.

Artikel/Article: [Zur biologischen Wirkung der Polyporsäure. Toxikologische und biochemische Bearbeitung von zwei Vergiftungsgeschehen mit dem Zimtfarbenen Weichporling \(Hapalopilus rutilans\) 173-184](#)