Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Het gedrag van digitalis-glucosiden in het dierlijke organisme en de samenstelling van digitalis-praeparaten

https://hdl.handle.net/1874/300172

A. qu. 192. 1931.

HET GEDRAG VAN DIGITALIS-GLUCOSIDEN IN HET DIERLIJKE ORGANISME EN DE SAMENSTELLING VAN DIGITALIS-PRAEPARATEN

R. A. HOEKSTRA

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

HET GEDRAG VAN DIGITALIS-GLUCOSIDEN IN HET DIERLIJKE ORGANISME EN DE SAMENSTELLING VAN DIGITALIS-PRAEPARATEN

HET GEDRAG VAN DIGITALIS-GLUCOSIDEN IN HET DIERLIJKE ORGANISME EN DE SAMENSTELLING VAN DIGITALIS-PRAEPARATEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS DR. L. S. ORNSTEIN, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG, 10. NOVEMBER DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

RIKSTUS ANDRIES HOEKSTRA
ARTS
GEBOREN TE WOMMELS

VERLAGSBUCHHANDLUNG F. C. W. VOGEL
IN BERLIN · 1931

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN DE NAGEDACHTENIS VAN MIJN BROER WIJTSE
MEDISCH STUDENT TE GRONINGEN EN MIJN
GROOTVADER DOKTER W. K. HOEKSTRA

AAN MIJNE OUDERS

Inhoud.

blz.

Inleiding

Hoofdstuk I: Digitalisglucosiden in bloed en weefselvocht 1

Hoofdstuk II: De opname van Digitalisglucosiden door de organen 15

Hoofdstuk III: De samenstellingen der galenische praeparaten afkomstig van bladpoeder van Digitalis Purpurea en Digitalis Lanata 37

Hoofdstuk IV: De cumulatie der geneesmiddelen afkomstig van bladpoeder van Digitalis Purpurea en Digitalis Lanata in verband met hunne samenstellingen uit zuivere glucosiden 71

Hoofdstuk V: De functie der saponinen in de galenische praeparaten uit Pulvis Foliorum Digitalis Purpurea 82

Hoofdstuk VI: De functie der slijmachtige substanties in de galenische praeparaten uit Pulvis Foliorum Digitalis Purpurea en Pulvis Foliorum Digitalis Lanata 102

Hoofdstuk VII: Digalen „Roche" 115

Overzicht van den inhoud 126

Den Hoogleeraren van de Medische en Philosophische faculteiten van de Groningsche en van de Amsterdamsche Hoogeschool zeg ik dank voor het van hen genoten onderwijs.

Hooggeleerde Bijlsma, Hooggeachte Promotor! Een experimenteel onderzoek onder Uw leiding verricht te hebben, beschouw ik als een groot voorrecht.

Het nauwe contact met U, die een sfeer in Uw Laboratorium weet te scheppen, waardoor iedere inspanning daar tot een ontspanning wordt; Uwe voortdurende belangstelling in mijn werk, waarbij Gij mij steeds voortgeholpen hebt, als mijne vermogens te kort schoten; en het vele, wat ik van U als geleerde en als mensch, door woord en daad, heb kunnen leeren, — stemmen mij tot grooten dank.

Hooggeleerde Snapper! Gedurende den tijd, dat ik Uwe gastvrijheid op Uw vorig Laboratorium genoot, hebt Gij, door Uw werk en Uwe persoonlijkheid, mijne belangstelling in Pathologisch-Physiologische vraagstukken tot een blijvende gemaakt. Hierdoor hebt Gij mij zeer aan U verplicht. In Uw kliniek mij onder Uw leiding verder te kunnen ontwikkelen, wordt door mij als een groot voorrecht beschouwd.

Hooggeleerde de Haan! Dit proefschrift zij U een bewijs ervoor, dat Uwe lessen en opvattingen blijvende indrukken op Uwe leerlingen achterlaten. Voor de groote moeiten, welke Gij U voor mij hebt willen getroosten ben ik U zeer erkentelijk.

Zeergeleerde le Heux! Uw raad en hulp bij mijn onderzoek en Uwe vriendschappelijke houding zijn door mij zeer gewaardeerd. Ontvangt daarvoor mijn grooten dank.

Zeergeleerde Hannema! Zeergeleerde van Paassen! Voor het van U genoten klinische onderricht ben ik U zeer veel dank verschuldigd.

Weledelgeleerde Schleurholz-Boerma! Door je vriendschap en door je reeds als student bepaalde medische denkrichting, welke bij mij weerklank vond, heb je je jaargenoot blijvend aan je verplicht.

Zeergeleerde van Esveld! Zonder de, door mij zeer op prijs gestelde samenwerking met U, waren mij vele, hier uitgewerkte, vraagstukken onoplosbaar gebleven.

Zeergeleerde van Creveld!, De Kleijn!, Grünbaum!, Hondelink! Ontvangt mijne dankbetuiging voor de moeilijk te schatten verplichtingen, welke ik aan U heb voor van U verkregen vriendschap en kennis.

Waarde ten Kleij! De van U verkregen samenwerking bij het onderzoek beschreven in het 6e Hoofdstuk heb ik zeer op prijs gesteld.

Hooggeachte Mevrouw en Mijnheer Philips! Voor de jarenlange vriendschap en gastvrijheid door mij van U genoten betuig ik U op deze plaats mijne erkentelijkheid.

Inleiding.

De aanleiding tot het hier beschreven onderzoek vormde het feit, dat door het Rijks Instituut voor Pharmaco-Therapeutisch Onderzoek de behoefte gevoeld werd, nadere gegevens te verkrijgen over de werking van de galenische produkten afkomstig van bladpoeder van de Digitalis Lanata.

Deze Digitalissoort wordt veelvuldig in Oostenrijk gekweekt en het is gebleken, dat haar gehalte aan Digitalisglucosiden aanmerkelijk grooter is, dan dat van de, in de geneeskunde officineel gebruikte, Digitalis Purpurea.

Bij de kontroleijkingen van Liquor Digitalis (Digisol) en van Pulvis Foliorum Digitalis door het bovengemelde Instituut, bleek herhaaldelijk dat de sterkte aanzienlijk hooger was dan die, welke in de Nederlandsche Pharmacopee wordt voorgeschreven.

Men meende te doen te hebben met producten, welke bereid waren uit Digitalis Lanata.

Op verzoek van het Instituut werd nu door Dr. van Esveld, pharmacoloog aan het Centraal Laboratorium te Utrecht en door mij, een studie verricht, welke zich ten doel stelde, vergelijkende gegevens te verschaffen over de werking van Lanataprodukten en Purpureapraeparaten.

Van Esveld nam op zich na te gaan, hoe het stond met het cumuleerend vermogen der verschillende extracten uit beide Digitalissoorten. In het Pharmacologisch Instituut der Rijksuniversiteit werd ik door Professor Bijlsma in staat gesteld een oordeel te vormen over de vele andere, eventueel voor beide Digitalissoorten verschillende, werkingen in het dierlijke organisme.

Terwijl in den eersten tijd in deze richting werd gewerkt, bleek mij spoedig dat een breedere opvatting van mijn taak gewenscht was, waardoor mijn onderzoek een zelfstandig karakter kreeg.

Uit de zoo door mij verkregen gegevens, kon een grondslag worden samengesteld voor de door van Esveld gevonden cumulatie-verschijnselen, na inspuiting der onbehandelde galenische produkten. (Mededeelingen van het Rijks Instituut voor Pharmaco-Therapeutisch Onderzoek. 1930. No. 20.)

Zij konden bovendien in dezen vorm worden beschreven, waarvoor ik de Medische Faculteit te Utrecht dank zeg.

I. Das Verhalten von Digitalisglykosiden in Blut und Gewebsflüssigkeit.

Mit 3 Textabbildungen.

In Versuchen an isolierten Organen habe ich als Speiseflüssigkeit diejenige Flüssigkeit verwenden wollen, welche man nach einer von de Haan[1] beschriebenen Methode aus der Bauchhöhle eines Kaninchens erhält. Diese Methode besteht darin, daß dem Kaninchen $^1/_2$ l Ringerlösung intraperitoneal eingebracht wird, welche dann nach $^1/_2$ Stunde mittels eines „Troikart" wieder abgehebert wird. Die so erhaltene Flüssigkeit ist am besten mit der Lymphe, welche in der Umgebung leichter akuter Entzündungen gebildet wird, zu vergleichen. Isolierte Säugetierherzen funktionieren sehr gut, wenn sie mit dieser Bauchhöhlenflüssigkeit gespeist werden. Nach Verdünnung mit der halben Menge Wasser bildet sie auch ein gutes Milieu für Froschherzen, Froschgefäße usw.

In einem meiner ersten Versuche zeigte sich die merkwürdige Erscheinung, daß ein Froschherz (Rana esculenta) nicht vergiftet werden konnte durch Digitoxin (Merck), wenn dieses in einer solchen Bauchhöhlenflüssigkeit gelöst ist.

Die Bauchhöhlenflüssigkeit spielt hier eine ähnliche Rolle wie das Blutserum in den Versuchen von Oppenheimer[2]. Dieser Autor stellte fest, daß Digitoxin, gelöst in Kaninchenserum, für das isolierte Froschherz völlig unwirksam war, dagegen in Froschserum gelöst, für dasselbe Organ wieder ebenso giftig war wie in Ringerlösung. Oppenheimer

[1] J. de Haan, Dissertation, Groningen 1920. — J. de Haan und K. J. Feringa, Kon. Acad. v. Wetensch., Amsterdam 1920, Bd. 22, S. 962, und Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 1922, Bd. 197, S. 404. — J. de Haan, Nederlandsch tijdschr. v. geneesk., 1. u. 2. Hälfte, 1924, Bd. 68, S. 2110.

[2] E. Oppenheimer, Biochem. Zeitschr. 1913, Bd. 55, S. 134.

vermutet, daß wir es hier mit chemischen Prozessen oder vielleicht mit physiko-chemischen Zustandsänderungen des Glykosides zu tun haben, welche nicht in arteigenem Serum auftreten. Im Gegensatz zu den Versuchen mit Digitoxin fand Oppenheimer, daß Strophanthin durch Kaninchenserum nicht entgiftet wurde.

Die Versuche von Oppenheimer, welche ich, wie unten ausgeführt wird, vollkommen bestätigen kann, stimmen nicht mit allen Literaturangaben überein. Werschinin[1] teilt mit, daß sowohl Strophanthin wie auch Digitoxin in ihrer Wirkung am Froschherzen durch Kaninchenserum verstärkt werden. Schwierig damit in Einklang zu bringen ist auch die von Lhotak von Lhota[2], Yernaux[3] und Oppenheimer selber (a. a. O.) wahrgenommene Tatsache, daß in defibriniertem Pferde- oder Kaninchenblut das Digitoxin noch für das isolierte Froschherz giftig ist, das defibrinierte Blut sich also anders verhält als das Serum. Dagegen sei nach v. Lhota im von Hirudin ungerinnbar gemachten Blut die Digitoxinwirkung wieder aufgehoben.

Für die Erkenntnis der Verteilung des Digitoxins im Körper ist es erwünscht, diese Tatsachen näher zu betrachten und wo möglich festzustellen, was mit dem Digitoxin im Serum (oder in der Bauchhöhlenflüssigkeit) geschieht.

Die in dieser Mitteilung zu beschreibenden Versuche geschahen hauptsächlich mit dem isolierten Froschherzen (Rana esculenta) an der Straubkanüle und mit dem isolierten Kaninchenherzen im Langendorffapparat. Als Speiseflüssigkeit für das Froschherz dienten Ringerlösung, Froschserum 1 : 6, isotonisch gemachte Bauchhöhlenflüssigkeit des Kaninchens (s. oben) und Kaninchenblutserum 1 : 6, für das Kaninchenherz Locke-Ringerlösung, Kaninchenserum 1 : 1000 (auf Locke-Ringer) und Katzenserum 1 : 1000 (höhere Serumkonzentrationen verträgt das Säugetierherz nicht).

Nachdem ich wiederholt gesehen hatte, daß Digitoxin, in Bauchhöhlenflüssigkeit gelöst, für das Froschherz ungiftig war, habe ich den folgenden Versuch angestellt, um zu erforschen, ob das Digitoxin vernichtet wurde oder nicht. In 60 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit wurde die doppelte für ein Kaninchen von 1,78 kg Gewicht tödliche Dosis (also $2 \times 1{,}78 \times 0{,}75$ mg $= 2{,}7$ mg) Digitoxin (Merck) gelöst. Von dieser

[1] Werschinin, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1909, Bd. 60, S. 328; 1910, Bd. 63, S. 386.

[2] Lhotak von Lhota, Biochem. Zeitschr. 1913, Bd. 48, S. 144.

[3] Yernaux, Arch. internat. de pharmaco-dyn. et de thérapie 1908, Bd. 18, S. 117.

Lösung wurde 1 ccm froschisotonisch gemacht und in die Straubkanüle eingeführt (Digitoxinkonzentration 1:33000); das Herz wurde nicht vergiftet (in Ringer gelöst ist Digitoxin 1:100000 die Grenzkonzentration).

Die noch übriggebliebene Flüssigkeit wurde durch Kochen nach Zusatz von 0,17% Essigsäure enteiweißt. 30 ccm des eiweißfreien Filtrates wurden einem Kaninchen von 1,78 kg Gewicht intravenös eingespritzt, das Tier starb nach 20 Minuten unter typischen Digitalissymptomen, das Herz stand in Systole, das Digitoxin war also noch in wirksamer Form anwesend. Die präzipitierten Eiweiße wurden mit Alkohol extrahiert,

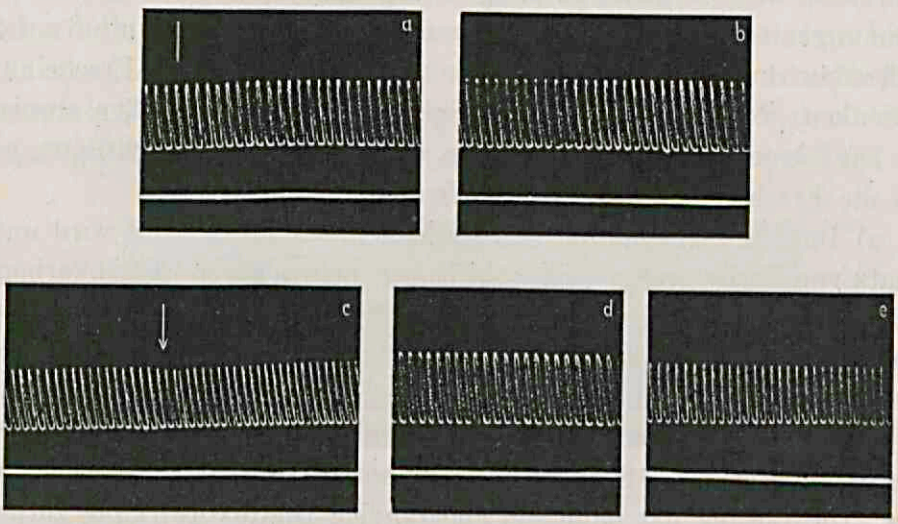


Abb. 1. a: Froschherz, Rana esculenta, Straubkanüle. Beim Pfeil Digitoxin 1:8000 in Katzenserum 1:6, froschisotonisch. b: Nach 20 Minuten. c: Froschherz, Rana esculenta, Straubkanüle. Beim Pfeil Digitoxin 1:8000 in froschisotonisch gemachter Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. d: Nach 20, e: nach 45 Minuten.

der Extrakt eingedampft und in Ringer gelöst, diese Lösung war für ein Froschherz ungiftig. An die koagulierten Eiweiße war also kein Digitoxin gebunden.

Um zu untersuchen, was mit dem Glykosid in der Bauchhöhlenflüssigkeit geschieht, brachte ich eine Digitoxinlösung 1:20000 in Bauchhöhlenflüssigkeit über Ultrafilter verschiedener Dichte, hergestellt aus 3—7%igen Lösungen von Kollodium in Eisessig. Die Versuche scheiterten jedoch, weil das Digitoxin, auch aus wässerigen Lösungen, vollständig an den Ultrafiltern adsorbiert wurde.

Wenn man in ein solches Ultrafilter die Bauchhöhlenflüssigkeit bringt und in dem eiweißfreien Ultrafiltrat Digitoxin löst, so ergibt sich, daß hierin das Digitoxin genau so giftig für das Froschherz ist als wenn es in Ringer gelöst ist (Grenzkonzentration 1:100000, Stillstand innerhalb

5 Minuten durch 1 : 12000, sofortiger Stillstand durch 1 : 8000). Das eiweißfreie Ultrafiltrat entgiftet also nicht.

Demgegenüber zeigt Abb. 1, wie das Froschherz nicht vergiftet wird durch Digitoxin 1 : 8000 in Katzenserum 1 : 6 und in Bauchhöhlenflüssigkeit.

Es gibt sogar Herzen, die noch weiter pulsieren in Digitoxinlösungen 1 : 2000 in Bauchhöhlenflüssigkeit. Diese starke Entgiftung sah ich nur in den Monaten September bis zum Dezember, nach dieser Zeit war die Entgiftung derartig hoher Konzentrationen weniger vollständig.

Die Versuche mit dem Ultrafiltrat zeigen schon, daß wir hier mit einer Wirkung der Kolloide zu tun haben. Versuche, in welchen ich Cholesterin oder Lezithin in Ringer suspendierte, zeigten, in Übereinstimmung mit Karauwlow[1], daß diese Substanzen keinen Einfluß auf die Digitoxinwirkung haben. Es liegt also auf der Hand, an eine Erscheinung zu denken, welche sich zwischen Digitoxin und den Eiweißen abspielt.

Die folgenden Versuche beweisen, daß diese Meinung richtig ist, und daß die Erscheinung physikalisch-chemischer Natur ist:

a) Die Lösung von Digitoxin in Bauchhöhlenflüssigkeit wird unter Zusatz von Essigsäure gekocht, abfiltriert, neutralisiert mit Bikarbonat und dann wieder in die Straubkanüle geführt. Das Herz zeigt die typischen Digitalissymptome, die Grenzdosen sind dieselben wie in Ringer. Alles Digitoxin erscheint also unzersetzt im Filtrat.

b) Digitoxin 1 : 8000 in Bauchhöhlenflüssigkeit wird digeriert durch Pepsin oder Trypsin (6 Stunden bei 40° und passender p_H), dann neutralisiert. Die Lösung hat dann die vollständige Digitoxinwirkung zurückerhalten.

Reine Bauchhöhlenflüssigkeit, in dieser Weise behandelt, ist für das Froschherz nicht giftig.

c) Digitoxin 1 : 8000 in Bauchhöhlenflüssigkeit wird gesättigt mit Ammoniumsulfat, die präzipitierten Eiweiße werden abfiltriert, ausgewaschen mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung, getrocknet, dann im Soxleth mit absolutem Alkohol extrahiert. Man bekommt in dieser Weise die ganze Menge Digitoxin zurück.

Kontrollversuche lehren, daß Digitoxin auch aus Ringerlösung durch Sättigung mit Ammoniumsulfat auskristallisiert, man erhält in diesem Falle jedoch das Glykosid nicht quantitativ zurück.

d) Ganz sichergestellt wird die Eiweiß-Digitoxinbindung mittels des von Willstätter[2] hergestellten Aluminiumhydroxyds B. Dieses adsorbiert quantitativ die Kolloide aus einer Eiweißlösung.

[1] Th. Karauwlow, Biochem. Zeitschr. 1911, Bd. 32, S. 2 u. 145.

[2] R. Willstätter, Ber. d. dtsch. chem. Ges. 1924, Bd. 57, S. 1082.

Wird eine Digitoxinlösung in Ringer mit diesem Aluminiumhydroxyd B behandelt, dann enthält das Aluminiumgel kein Digitoxin. Eine Lösung von Digitoxin in Bauchhöhlenflüssigkeit wird durch diese Behandlung enteiweißt, das Filtrat ist glykosidfrei, aus dem mit Wasser gewaschenen Aluminiumhydroxyd-Eiweiß-Digitoxinkomplex kann das Digitoxin freigemacht werden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß in Bauchhöhlenflüssigkeit und in Blutserum (womit die Versuche genau so ausfallen) das Digitoxin an Eiweiß gebunden ist. Folgende Versuche beweisen, daß diese Bindung physikalischer Natur ist.

A. Ein Froschherz zeigt gar keine Symptome, wenn es auf 1 ccm Ringer + $^1/_8$ Teil seines Gallenblaseninhaltes klopft. Das Herz klopft in 1 ccm einer Digitoxinlösung 1 : 8000 in isotonischer Bauchhöhlenflüssigkeit ebensogut weiter. Wenn ich jetzt $^1/_8$ des Gallenblaseninhaltes hinzufüge, so steht das Herz schnell in digitalisartiger Weise systolisch still.

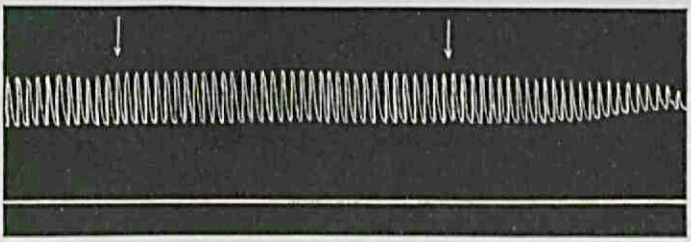


Abb. 2. Froschherz, Rana esculenta, Straubkanüle. Beim ersten Pfeil Digitoxin 1 : 8000 in froschisotonisch gemachter Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. Beim zweiten Pfeil Zusatz einer an sich unwirksamen Menge Digitsaponin.

Hier ist die physikalische Adsorptionsbindung verbrochen durch die, die Oberflächenspannung erniedrigende Funktion der gallensauren Salze. Das Digitoxin wird frei und übt seinen Einfluß auf das Herz aus.

B. Eine Lösung von Saponin purissimum „Merck" 1 : 20000 hat keine Wirkung auf das isolierte Froschherz. Dasselbe Herz klopft normal weiter in einer Digitoxinlösung 1 : 8000 in isotonischer Bauchhöhlenflüssigkeit. Bringe ich jetzt in die Straubkanüle dieses Herzens eine solche Menge Saponin, daß dessen Konzentration in der Digitoxinlösung 1 : 20000 wird, so werden beim Herzen plötzlich deutliche Digitalissymptome hervorgerufen. Es geht schnell in systolischen Stillstand über.

Auch die reinen Saponine aus den galenischen Präparaten der Digitalis purpurea haben diese Wirkung (Abb. 2).

Wir sehen hieraus, wie oberflächenspannungerniedrigende Mittel imstande sind, den unwirksamen Eiweiß-Digitoxinkomplex derartig zu

beeinflussen, daß das Digitoxin wieder wirksam wird, sich also aus seiner Bindung befreit.

C. Auch die Wasserstoffionenkonzentration ist von vorherrschender Wichtigkeit bei der Entstehung der Digitoxin-Eiweißbindung. Meine Froschherzen vertrugen Flüssigkeiten, deren p_H variierte zwischen 6,2 und 8,35.

Ich säuerte Ringerlösung an mit Essigsäure oder setzte eine 10%ige $NaHCO_3$-Lösung zu. Bei einer p_H von 6 geht das Herz in diastolischen Stillstand über, welcher schnell wieder auswaschbar ist. Ist die p_H über 8,4, so sind ebenfalls keine Kontraktionen möglich.

Komiyama[1] hat festgestellt, daß bei einer $p_H < 5$ oder einer $p_H > 12$ irreversibler Stillstand eintritt, während Serebrennikov[2] als höchste p_H, welche das Herz verträgt, 8,35 findet.

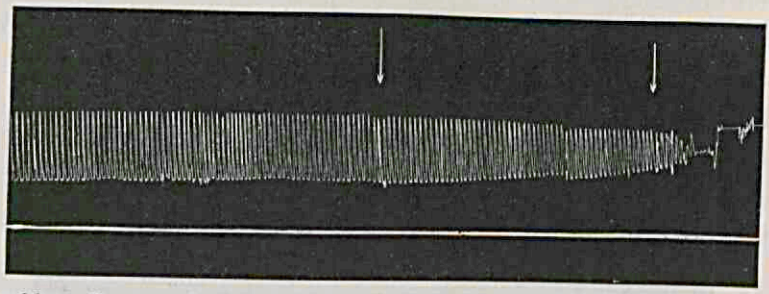


Abb. 3. Froschherz, Rana esculenta, Straubkanüle, während 10 Minuten klopfend auf 1 ccm froschisotonischer Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit mit Digitoxin 1:8000. Beim ersten Pfeil Zusatz von 7 Tropfen 10%iger $NaHCO_3$-Lösung, beim zweiten Pfeil Ringer. Nicht auswaschbar.

Habe ich ein wieder richtig klopfendes Froschherz in 1 ccm Digitoxinlösung 1:8000 in isotonischer Bauchhöhlenflüssigkeit des Kaninchens und bringe ich die p_H dieser Flüssigkeit mittels 7 Tropfen 10%iger $NaHCO_3$-Lösung auf eine $p_H = 8{,}3$, so endet das Herz sofort digitalisartig in Systole (Abb. 3).

Auch hier wieder eine Freimachung von Digitoxin aus seiner Bindung unter Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration seiner Umgebung.

Ich nehme also an, daß Digitoxinum purissinum „Merck" in Bauchhöhlenflüssigkeit des Kaninchens sich an die in der Flüssigkeit anwesenden Eiweiße bindet, und zwar in der Form einer physikalischen Adsorbtion.

Alle obengenannten Versuche verlaufen in derselben Weise, wenn verdünntes (1:6) Kaninchenserum statt Bauchhöhlenflüssigkeit ver-

[1] Komiyama, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1929, Bd. 139, S. 100.
[2] Serebrennikov, Russky fisiologicesky Zurnal 1918, Bd. 11, S. 109.

wendet wird. Manche dieser Versuche wurden mit demselben Resultat mit Katzenserum wiederholt.

Ganz anders verlaufen die Versuche, wenn man statt artfremder Eiweißlösung verdünntes Froschserum verwendet.

Wenn man in die Straubkanüle verdünntes Froschserum mit Digitoxin 1 : 8000 einfüllt, so tritt die Digitaliswirkung in ähnlicher Weise auf, wie wenn das Digitoxin in Ringer gelöst wäre. Ich komme hierauf später zurück.

Im Blattpulver von Digitalis lanata ist ebenfalls ein digitalisartig wirkender Körper anwesend, von mir früher Lanogen genannt (vermutlich identisch mit dem Lanadigin Mannichs, Mohs' und Mauss'[1]) das sich an Körpereiweiße bindet.

Bei obengenannten Versuchen benutzte ich als Objekt hauptsächlich das Froschherz an der Straubkanüle.

Zum Studium des Benehmens des Säugetierherzens dem gebundenen Digitoxin gegenüber wurden Versuche angestellt mit dem isolierten Kaninchenherzen am Apparat von Langendorff.

Wird das Koronarsystem von einer Digitoxinlösung 1 : 1000000 in Locke-Ringer durchströmt, so treten bald toxische Digitalissymptome auf. Unregelmäßigkeiten, wie Extrasystolen, Blockzustände mit Herzbeschleunigung, systolischer Stillstand, entstehen innerhalb 10 Minuten bei einer Digitoxinkonzentration 1 : 500000.

Genau wie beim Froschherzen ergeben sich dieselben Grenzdosen in arteigenem frischem Serum (1 : 1000).

Frisches Katzenserum (1 ccm auf 1 l Locke-Ringer) läßt das Herz schneller mit größeren Amplituden weiterklopfen. Bringt man in diese Serumlösung das Digitoxin in der Verdünnung 1 : 1000000 oder 1 : 500000, so zeigt das Kaninchenherz keine Digitalissymptome.

Die tödliche Konzentration des Digitoxins liegt bei Anwesenheit von Katzenserum bei 1 : 50000.

Auch das Serum des Hundes zeigt diese entgiftende Eigenschaft am isolierten Kaninchenherzen.

Inaktiviertes artfremdes Serum hemmt gar nicht (einige Versuche deuten hier vielmehr auf eine Förderung der Digitoxinwirkung).

In Hühnereiweiß ($^1/_4$ Eiereiweiß auf 1 l Locke-Ringer) zeigte sich erst eine Digitoxinlösung 1 : 20000 toxisch. Wir sehen also, wie eine geringe Menge artfremdes Eiweiß imstande ist, das Kaninchenherz bis zur etwa zehnfach tödlichen Konzentration zu schützen.

---

[1] C. Mannich usw., Südd. Apotheker-Zeitung 1930, S. 534.

Es zeigte sich, daß die Eiweiße aus 1 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit (Eiweißgehalt $1^1/_2\%$—$2^1/_2\%$) sicher imstande sind, eine Menge Digitoxin von 0,125 mg zu binden. Vermutlich ist diese Bindungsmöglichkeit eine noch größere, denn ich fand wiederholt, daß Digitoxin 1 : 2000 ebensogut ganz gebunden wurde. Bei dieser Konzentration muß man bei der Herstellung der Digitoxinlösung darauf achten, daß nicht soviel Alkohol hinzugefügt wird, daß die Eiweißemulsion sich trübt.

Bringt man Eiweiß im Übermaß und danach Aluminiumhydroxyd B in Lösungen von Digitoxin 1 : 2000 und zentrifugiert das Gemisch, wodurch die Eiweiße mit dem Aluminiumhydroxyd abgeschleudert werden, so ist die obenstehende klare Flüssigkeit aus der Zentrifugenröhre atoxisch geworden. Ich kann also annehmen, daß jede Digitoxinkonzentration bei Anwesenheit genügender Mengen Serumeiweiße oder Bauchhöhlenflüssigkeitseiweiße quantitativ an diese Eiweiße gebunden ist.

Wir haben gesehen, daß koagulierte Eiweiße das Bindungsvermögen verloren haben.

Aber auch Serum, welches $^1/_2$ Stunde auf 59° erhitzt ist, ist nicht mehr imstande, das Digitoxin quantitativ zu binden. Obwohl das Aluminiumhydroxyd aus einer Digitoxinlösung 1 : 8000 in diesem inaktivierten Serum eine große Menge Digitoxineiweiß adsorbiert, bleibt immer noch ungebundenes, freies Digitoxin zurück, das imstande ist, das isolierte Herz zu vergiften.

Kasein und Hühnereiweiß entbehren ebenfalls, wie inaktiviertes Serum, die Eigenschaft, das Glykosid quantitativ zu binden. Es ist sehr wohl möglich, daß sie mit dem Digitoxin eine dissoziabele Bindung eingehen. Löst man Digitoxin in einer Kaseinsuspension und zentrifugiert man bis die obenstehende Flüssigkeit kaseinfrei geworden ist, so befindet sich in diesem kaseinfreien Wasser dennoch ungebundenes Digitoxin. Das abzentrifugierte Kasein wird einige Male mit Wasser ausgewaschen und dann mit absolutem Alkohol extrahiert.

In diesem Extrakt ist deutlich Digitoxin nachweisbar, aber es findet sich hierin nur ein geringer Teil der Ausgangsmenge Glykosid. Das Digitoxin war also nur partiell an das Übermaß Kasein gebunden.

Man braucht also in vivo die von Veil und Heilmeyer[1] nachgewiesene Zunahme der Eiweißkonzentration im Blute nach Digitalisgebrauch per os gar nicht, um anzunehmen, daß die Digitoxinfraktion, in welcher Form man sie auch gibt, sich an die Serumkolloide bindet.

Es wäre möglich, daß die in den galenischen Produkten mitgegebenen Saponine (Digitsaponin α, β und γ und Gitine) dem Zustandekommen

[1] Veil und Heilmeyer, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1925, Bd. 147, S. 22.

der Bindung im Blute entgegenarbeiten oder diese eventuell wieder lösen.

Für diese Digitalissaponine ist die Resorption aus dem Magen-Darmtraktus nicht studiert. Im allgemeinen werden Saponine nach Kobert nur teilweise im Magen-Darmkanal resorbiert[1].

Kruskal[2] zeigte, daß im Falle einer anwesenden spontanen oder durch die gegebenen Saponine selbst hervorgerufenen Enteritis, die Resorption der Saponine eine vollständigere ist. Jedenfalls kann man mit per os gegebenen Saponinen Vergiftungssymptome hervorrufen, und immer ist das Zerlegungsprodukt Sapogenin im Urin anwesend, ungeachtet wieviel Saponin man eingebracht hat.

Derjenige Teil der Digitalissaponine, welcher also resorbiert wird und in der Blutbahn anlangt, wird an das im Übermaß im Blute anwesende Cholesterin-Lezithin gebunden[3]. Hierdurch sind sie für die Wirkung auf die Digitoxin-Eiweißbindung lahmgelegt.

Wir haben also gesehen, daß Digitoxin an Serumeiweiß gebunden wird. Wenn man 1 ccm Digitoxin (1 : 8000) in Bauchhöhlenflüssigkeit mit Aluminiumhydroxyd B behandelt, so ist die obenstehende Flüssigkeit für das Froschherz atoxisch, d. h. der Digitoxingehalt dieser Flüssigkeit ist weniger als 1 : 150000. Es kann also höchstens etwa 5% des Digitoxins freigeblieben sein, während mindestens 95% adsorbiert worden ist.

Besteht in vivo im Blute auch eine ähnliche Digitoxin-Eiweißbindung, so muß hier praktisch alles Digitoxin gebunden sein, denn im strömenden Blut findet sich ein viel größeres Übermaß an Eiweiß.

In Hinsicht auf die oben zitierten Arbeiten von Werschinin und Oppenheimer, die ja nicht immer eine definitive Aufhebung der Digitoxinwirkung erwähnen, sondern oft nur eine Hemmung konstatieren, kann folgendes bemerkt werden.

Auch in meinen Versuchen war in den Monaten Januar bis zum Mai die Entgiftung weniger vollständig; immer war jedoch eine gewisse Hemmung der Digitoxinwirkung deutlich. Da in diesen Monaten sich die Eiweißbindung physikalisch-chemisch, wie zu erwarten war, ebenso vollständig nachweisen ließ, muß der Unterschied wohl dem Zustand der Frösche zugeschrieben werden. In der folgenden Mitteilung wird diese Möglichkeit weiter ausgearbeitet werden.

Während nun Werschinin Temporariaherzen verwendete, Oppenheimer seine Froschart nicht angibt und ich immer mit Eskulenten

[1] Kobert in Heffters Handb. d. exp. Pharmakol. Bd. 2, II, S. 1503.
[2] Kruskal, Arb. a. d. pharmakol. Inst. Dorpat 1891, Bd. 6, S. 129.
[3] Liffschüts, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 1921, Bd. 117, S. 201.

arbeitete, kann auch in diesem Umstande eine Erklärung für gewisse quantitative Unterschiede liegen.

Eine zweite bemerkenswerte Tatsache aus der Arbeit Oppenheimers ist diese, daß die Hemmung der Giftwirkung viel stärker ist durch Serum als durch Blut. Werschinin findet diesen Unterschied nicht. Ich habe selber nur wenige Versuche mit Blut gemacht, und leider nur in einer Zeit, wo die Hemmung der Digitoxinwirkung durch Serum relativ gering war. Ein deutlicher Unterschied zwischen Blut und Serum ließ sich dabei nicht feststellen. Die Möglichkeit besteht natürlich, daß in dazu besser geeigneten Monaten doch ein solcher Unterschied sich bemerkbar machen würde.

Mit reiner Hämoglobinlösung (Katzenhämoglobin) ließ sich auch eine Entgiftung einer Digitoxinlösung 1 : 20000 am Froschherzen nachweisen.

Es ist schwer, Versuche anderer Autoren über diese Frage zu kritisieren. Die Menge der anwesenden Eiweiße, die Alkoholkonzentration der Digitoxinlösungen (s. folgende Mitteilung), vielleicht auch die Froschart, aber gewiß die Jahreszeit spielt hierbei eine unabsehbare Rolle, wenn nicht alles in den Protokollen verzeichnet ist. Vorläufig ist es mir nicht klar, welcher physikalisch-chemische Einfluß für einen eventuellen Unterschied zwischen Blut und Serum verantwortlich sein könnte.

Wie verhalten sich die anderen Digitalisglykoside: das Gitalin und das Bigitalin?

Liquor Digitalis (Ed. V. N. Ph.), welcher hauptsächlich aus Gitalin und Bigitalin besteht, wird ganz wenig, Strophanthin gar nicht in ihrer Auswirkung auf das Froschherz durch Bauchhöhlenflüssigkeit oder durch Kaninchenserum gehemmt. Ob sogar das Strophanthin in Kaninchenserum dem Froschherzen gegenüber verstärkt wird, konnte ich nicht feststellen.

Das Benehmen des Strophanthins in Körperflüssigkeiten ist ein anderes, und zwar weicht es von dem des Digitoxins ab, insofern keine Bindung von Strophanthin an Eiweiße nachweisbar ist. Das Strophanthin bleibt frei, bei welchem Säuregrad man auch untersucht.

Ebensowenig sah ich die Strophanthinwirkung durch Cholesterin gehemmt.

Es ist also erlaubt anzunehmen, daß Strophanthin ungebunden im Blute anwesend ist. Dieser Tatsache ist es wahrscheinlich wenigstens teilweise zuzuschreiben, daß man im vergifteten Tierblut[1] wohl immer pharmakologisch Strophanthin nachweisen kann, aber kein Digitoxin.

[1] Straub, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1919, Bd. 84, S. 223.

Es gelang Cloëtta nur Digitoxin und Spaltungsprodukte des Digitoxins im Blute nachzuweisen, nachdem er eine Methode eingeführt hatte, wobei er die untersuchten Körperteile mit Sand und Ammoniumsulfat behandelte, bis alles Eiweiß niedergeschlagen war. Dann kochte er mit Essigsäure und extrahierte mit Alkohol. Wenn er jetzt neben dem Digitoxin eine Menge Genine antrifft, kann dieses Resultat ebensogut dem großen Eingriff zugeschrieben werden, und ich sehe hier keinen Beweis für die tatsächliche Anwesenheit der Genine als solche in vivo.

Ohne daß ich danach suchte, habe ich selber auch mehrere Male aus reinem Digitoxin Produkte entstehen sehen, welche das Froschherz partiell reversibel enden ließen. Das waren also Substanzen, welche mit den Geninen Cloëttas pharmakologisch identisch waren. Das geschah nur, wenn ich den Digitoxineiweißkomplex, präzipitiert durch Ammoniumsulfat, bei einer Temperatur von über 100° C trocknete. Die so erhaltene Substanz wurde noch durch Eiweiß entgiftet. Die Tatsache, daß es äußerst zweifelhaft ist, ob die von Cloëtta gefundenen „Genine" wirklich in vivo im Blute und in den Geweben anwesend sind, hat noch eine wichtigere Konsequenz, da sie die Grundlagen der Cloëttaschen Theorie über die Digitaliskumulation erschüttert.

Von allen Autoren ist Cloëtta der einzige, der nicht annimmt, daß die Kumulation eines Digitalispräparates nur von der Menge Gift abhängt, welche im Herzen selbst sich absetzt. Cloëtta meint, daß die Glykoside von quergestreiften Muskeln gespeichert werden und allmählich das Glykosid wieder abgeben in der Form ihres Genins, welches wieder Herzwirkung haben soll.

Fischer[1] hat die Cloëttasche Theorie zu beweisen versucht.

Frischer Skelettmuskel wird in der Hackmaschine und im Mörser zerkleinert. Mit diesem Muskeleiweißbrei wird weiter gearbeitet, der Verfasser sagt aber schon, daß die Fixationsfähigkeit des unverletzten lebenden Muskels kleiner ist, als die des Muskelbreies, wo viele Membranen verletzt und geschädigt sind.

Als Fischer Digitoxin im Muskelbrei löste, war eine deutliche Fixation am Substrat bemerkbar. Er bewahrte diese Digitoxinlösungen im Muskelbrei 5—6 Tage auf, und es stellte sich heraus, daß sich in den oberen Schichten der Muskelemulsion fettartige Substanzen gebildet hatten und daß diese Lösung eiweißreich war. Durch die Abtrennung dieser Eiweißsubstanzen hat der Verfasser zweifellos auch das anwesende Digitoxin entfernt.

---

[1] H. Fischer, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1928, Bd. 130, S. 111.

Als er den Muskelbrei nach 18 Stunden untersuchte, hatte sich weniger Eiweiß gebildet, er entfernte also weniger Glykosid und fand mehr Digitoxin in den Muskelresten als nach 6 Tagen.

Die experimentelle Grundlage der Cloëttaschen Kumulationstheorie ist damit wohl angegriffen.

Liquor Digitalis (Digisol) soll die von Meulenhoff dargestellte Gitalin-Bigitalinfraktion aus dem Blatt der Digitalis purpurea sein[1]. Auch diese Flüssigkeit wird in ihrer Wirkung wenig durch artfremdes Serum oder Bauchhöhlenflüssigkeit gehemmt.

Weil ich kein zuverlässiges reines Gitalin- oder Bigitalinpräparat hatte, konnten in der ersten Zeit keine Versuche mit diesen Glykosiden angestellt werden.

Später bereitete ich selbst Gitalin und Bigitalin aus den galenischen Produkten von Digitalis purpurea und von Digitalis lanata.

In einer späteren Mitteilung wird das gute Recht verteidigt, den von mir erhaltenen Glykosiden diese Namen zu geben und sie mit den gleichnamigen Glykosiden der ursprünglichen Autoren zu identifizieren.

Auch dieses Gitalin und Bigitalin bindet sich nicht an Eiweiße, auch nicht wenn die p_H nach der sauren oder der alkalischen Seite hin verschoben wird.

Ihre Wirkung ist in Ringerlösung und in der Bauchhöhlenflüssigkeit oder im Serum eine gleich intensive.

Aluminiumhydroxyd B adsorbiert sie nicht; auch nicht bei Anwesenheit von Eiweißen, und sie werden nicht präzipitiert durch Sättigung ihrer Lösung mit Ammoniumsulfat. Weder Lezithin noch Cholesterin haben auf sie irgendeinen Einfluß.

Das Lanatoxin (das kumulierende Glykosid der Digitalis lanata, vermutlich identisch mit dem Glykosid II von Mannich, Mohs und Mauß) und das Lanatalin (= Glykosid III der genannten Verfasser) verhalten sich hier in gleicher Weise wie die Gitalin- und Bigitalinfraktion der Digitalis purpurea.

Diese Präparate werden also nach ihrer Einnahme, genau wie Strophanthin, im Blut frei gelöst sein.

Es gibt noch andere digitalisartig wirkende Körper, welche sich durch eine spezielle Bindungsmöglichkeit unterscheiden. Diese Produkte stehen ganz dicht bei einer Gruppe von Stoffen, die doch schon nahe den Digitalisglykosiden verwandt sind: nämlich den Saponinen.

Digitonin, Helleborein[2] und Glykosid IV aus Digitalis lanata hämolisieren noch in großen Verdünnungen, während sie sich ebenso wie die

[1] Sluyters, Dissertation, Utrecht 1920. [2] Karauwlow, a. a. O.

Saponine an Cholesterin binden. Diese Bindung vernichtet ihre digitalisartige Wirkung dem isolierten Froschherzen gegenüber.

Zusammenfassung.

Die Versuche an isolierten Froschherzen zeigten folgende Resultate:

		Froschherz
Ringer + Digitoxin		steht still
„ + Kaninchenei weiß	+ Digitoxin	unwirksam
„ + Katzenei weiß	+ „	„
„ + Froschei weiß	+ „	steht still
„ + Kaninchenei weiß	+ „ ($p_H = 6{,}8$)	unwirksam
„ + „	+ „ ($p_H = 8{,}3$)	steht still
„ + „	+ „ + Galle	„ „
„ + „	+ „ + Saponin	„ „
„ + gekochtes Kaninchenei weiß	+ „	„ „
„ + durch Pepsin verdautes Kaninchenei weiß	+ „	„ „
„ + durch Trypsin verdautes Kaninchenei weiß	+ „	„ „
„ + inaktiviertes Kaninchenei weiß	+ „	„ „

Aus Kaninchenei weiß + Digitoxin ist Eiweiß-Digitoxin auszusalzen mit $(NH_4)_2SO_4$ oder adsorbierbar durch Aluminiumhydroxyd B.

Das Digitalisglykosid Digitoxin, das kumulierende Prinzip der Folia Digitalis purpurea, bindet sich an die Kolloide des Serums und an die der Bauchhöhlenflüssigkeit des Kaninchens.

Diese Bindung ist physikalischer Natur, sie löst sich bei einer p_H 8,3 und wird durch die oberflächenspannungerniedrigenden Substanzen aufgehoben.

Die Säugetiereiweiß-Digitoxinbindung ist ungiftig für das Froschherz, für das Kaninchenherz wird Digitoxin analog durch Katzenei weiß entgiftet. Arteigenes Serum entgiftet das Glykosid nicht. Koagulierten Eiweißen fehlt das Bindungsvermögen.

Inaktivierte Eiweiße, Hühnereiweiß und Kasein binden nicht quantitativ.

Das Lanogen (Lanadigin) bindet sich in gleicher Weise wie das Digitoxinum purpureae.

Den sonstigen Digitalisglykosiden fehlt dieses Eiweißbindungsvermögen. Daraus geht für die bisher untersuchten Glykoside hervor: Nach

Einnahme digitalisartig wirkender Körper kommen im Blute und in der Gewebeflüssigkeit diese Arzneien in folgender Weise vor:

1. Gebunden an die Eiweißfraktion: Digitoxin, Lanogen (Lanadigin).

2. Gebunden an die Cholesterin-Lezithinfraktion: Digitonin, Helleborein, Glykosid IV aus Digitalis lanata.

3. Frei anwesend: Gitalin, Bigitalin, Lanatoxin (das kumulierende Prinzip der Digitalis lanata) und Lanatalin (= Glykosid III von Mannich, Mohs und Mauß, identisch mit Digitalinum verum von Kiliani).

II. Das Eindringen der Digitalisglykoside in die Organe.

Mit 2 Textabbildungen.

Beim Studium dieses Problems für die verschiedenen Digitalisglykoside ist man bisher von einem einzigen Standpunkte ausgegangen. Man setzte voraus, daß die Glykoside alle in ähnlicher Weise in die zu beeinflussenden Zellen hineindiffundieren. Doch läßt sich fragen, ob man ohne weiteres berechtigt ist, in dieser theoretischen Frage die Digitalis als einen einheitlichen Körper zu betrachten.

Die folgenden bekannten Tatsachen zeigten schon mehr oder weniger in dieser Richtung.

a) Die Glykoside haben eine ganz verschiedene Resorptionsgeschwindigkeit aus dem Darmkanal.

b) Auf isolierte Herzen tritt die Wirkung der Glykoside verschieden schnell auf; so gibt Strophanthin sofort, Digitoxin aber nach einer bestimmten Latenzphase Symptome.

c) Die Wirkung der verschiedenen Glykoside auf das Herz ist ungleich reversibel.

d) Die Kumulationsfähigkeit ist für jedes Glykosid eine andere.

e) Die Gefäßwirkung (am deutlichsten zu beobachten an den Nierengefäßen) ist nicht für jedes Glykosid dieselbe.

In der I. Mitteilung habe ich eine weitere Differenz zwischen den *Digitalisglykosiden hinzufügen können, und zwar:*

f) der Transport der Glykoside durch das Blut geschieht in drei verschiedenen Weisen.

In dieser Mitteilung handelt es sich darum, die Konsequenzen dieses letzten Unterschiedes im Benehmen der Digitalisglykoside im tierischen Organismus auszuarbeiten.

Während nach Einverleibung galenischer Produkte der Digitalis purpurea das Digitoxin im Blute quantitativ von den Serumeiweißen festgehalten wird, sind die nicht kumulierenden Körper Gitalin und Bigitalin ungebunden in der Blutbahn da. Die Digitalissaponine binden sich an die Lipoidfraktion des Blutes.

Es ist klar, daß hierdurch die Aufnahme des Digitoxins durch die Gewebe sich auf ganz andere Prozesse gründen muß als die Aufnahme des Gitalins und Bigitalins.

Digitonin, Helleborein oder Glykosid IV aus Digitalis lanata, welche sich auch an die Lipoidfraktion des Blutes binden, müssen ihr Ziel wieder auf andere Weise erreichen. Es ist leicht verständlich, daß das Digitoxin, gebunden an Kaninchenei weiß und im Froschherzen an der Straubkanüle eingeführt, nicht mehr imstande ist, in die Froschherzzellen einzudringen. Hierdurch kann es keine Wirkung auf das Herz ausüben; das Glykosid ist also durch Kaninchenei weiß für das isolierte Froschherz entgiftet.

Aber es war ganz auffallend, daß, sobald ich eine Entgiftung des Digitoxins im Froschserum festzustellen versuchte, das Froschherz immer bald digitalisartig endete; die toxischen Grenzdosen waren jetzt dieselben wie in Ringerlösung. Ich wies schon darauf hin, daß im allgemeinen das Digitoxin, in arteigenem Serum gelöst, seine Vollwirksamkeit behält, während sich dasselbe Glykosid in artfremdem Serum wirkungslos verhält. In beiden Fällen ist jedoch physisch-chemisch eine Digitoxin-Eiweißbindung nachweisbar (s. I. Mitteilung). Von einem Zerlegungsprozeß des Digitoxins im artfremden Serum war nicht die Rede.

Hinsichtlich der Eindringungsweise des Digitoxins in die Gewebe gibt es also drei Möglichkeiten:

1. Das Digitoxin, gelöst im arteigenen Serum, wird unmittelbar bei den Zellen aus seiner Eiweißbindung befreit und tritt jetzt als freier Körper in dieselben hinein. Die Zellen sind dagegen nicht imstande, einen Einfluß auf das mit Glykosid beladene artfremde Eiweiß auszuüben.

2. Das Digitoxin bindet sich nur teilweise an die Serum-Eiweißfraktion. Das noch frei im Blute übriggebliebene Gift kommt bei den Zellen an und tritt jetzt als freier Körper in dieselben hinein.

3. Der Digitoxin-Eiweißkomplex dringt als Ganzes in die Zellen ein, wenn das Eiweiß genuiner nativer arteigener Natur ist. Ist das letzte nicht der Fall, so sind die Zellen für den Giftkomplex unzugänglich.

In der letzten Zeit hat de Haan das Permeabilitätsproblem der tierischen Zellen mit Auffassungen erneuert, welche für das hier zu erörternde Problem äußerst wichtig sind.

de Haan meint, daß der Prozeß der Phagocytose als passiver Vorgang auf eine Linie zu stellen ist mit der fortwährenden Durchlässigkeit der äußersten Zellhülle für Eiweißmizellen. Die Phagocytose wie auch

die Durchlässigkeit der Zellhülle für native genuine Eiweiße sind die Folgen des Zellstoffwechsels.

Nur die Größe der einzunehmenden Eiweißpartikel varriiert bei den beiden im Grunde gleichartigen Prozessen, welche für das Leben dieser Zellen von großer Bedeutung sind. Im Mesenchymgewebe ergeben sich die größten Varietäten, sowohl was die Phagocytose als was die Eiweißpermeabilität anbelangt: stark phagocytierende Zellen (wie die Monocyten) und die fixen Bindegewebezellen (bei welchen Phagocytose selten beobachtet wird) kommen nebeneinander vor.

de Haan[1] arbeitete mit vitalen Farbstoffen und zeigte, daß die sauren vitalen Farbstoffe, wie Trypanblau, in vivo und in vitro quantitativ an die Serumeiweiße gebunden sind. In seinen Versuchen mit durchströmten Gewebekulturen in vitro zeigte de Haan[2], wie das Trypanblau bei Anwesenheit von Zelltrümmern außerordentlich viel stärker phagozitiert wurde als ohne dieselben; dadurch wurde wahrscheinlich, daß die Trypanblauspeicherung nur ein Ausdruck der Phagocytose bzw. der Aufnahme von Eiweißen ist.

Daraus ergab sich, daß der Trypanblau-Eiweißkomplex aufgenommen werden konnte; also sicher auch das arteigene Eiweiß an sich ohne Trypanblau.

Für die Pharmakologie ist es nun wichtig zu prüfen, ob man die de Haansche Theorie auch folgendermaßen formulieren darf: Heilmittel, welche sich nach ihrer Einnahme an Serumeiweiß binden, dringen zugleich mit dem Eiweiß in dafür geeignete Zellen ein. In dieser Mitteilung werde ich die oben genannte These für das System Digitoxin-Herzzelle prüfen.

Bevor ich dazu schreite, muß ich erst das unter 2 genannte besprechen; nämlich die Möglichkeit, daß das Digitoxin sich nur teilweise an die extrazellulären Eiweiße binden würde. Durch die vollständige Bindung des Digitoxin-Eiweißkomplexes an Aluminiumhydroxyd B. habe ich schon in der I. Mitteilung diese Möglichkeit ausgeschlossen. Aber die bekannte Theorie von Storm van Leeuwen[3], nach welcher manche Heilmittel im Plasma teilweise gebunden, teilweise frei vorkommen sollen, macht es notwendig, meine Versuchsergebnisse noch im Zusammenhang mit dieser Theorie zu diskutieren.

---

[1] J. de Haan, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 1923, Bd. 201, Hft. 3/6, S. 393.

[2] Derselbe, Arch. f. exp. Zellforsch. 1928, Bd. 7, S. 283.

[3] Storm van Leeuwen, Leerboek d. algem. Pharmacologie 1923, Blz. 194.

Pilokarpin[1, 2], Atropin[3, 4], Skopolamin[5], Kokain[6, 7], Strychnin[6, 9], Chinin[8], Kurare[3] usw. binden sich an kolloidale Bestandteile des Blutserums.

Storm van Leeuwen nennt diese Bestandteile, welche das Gift binden, ohne daß eine physiologische Reaktion daraus hervorgeht: sekundäre Chemorezeptoren, im Gegensatz zu den dominanten Chemorezeptoren, welche sich in den Organen befinden, worauf das Gift eine spezifische Wirkung ausübt. Nach den Versuchen von Storm van Leeuwen u. a. binden sich die genannten Gifte nicht quantitativ an die sekundären Chemorezeptoren.

Es bleibt also immer etwas zur Verfügung der dominanten Rezeptoren, wodurch eine Wirkung eintreten kann. Diese Theorie ist also gewissermaßen ein Analogon der Ehrlichschen Seitenkettentheorie.

Die Adsorptionsisotherme des Giftes an Kaninchenserum oder an Tierkohle war der Konzentrationswirkungskurve des gebundenen Heilmittels[10] gleichartig. Wir sehen hier einen deutlichen Unterschied zwischen dem Befinden der zitierten Autoren und meinen Ergebnissen mit Digitoxineiweiß, wobei ja das Digitoxin quantitativ gebunden wird.

Storm van Leeuwen schreibt in seinen Versuchen hauptsächlich der Lipoidfraktion des Blutes die sekundäre Chemorezeptorenfunktion zu; beim Digitoxin ist es zweifelsohne nur das Eiweiß, welches das Digitoxin bindet.

Die Storm van Leeuwensche Theorie (das ist die unter 2 genannte Möglichkeit der Digitoxineindringungsweisen), die eine nur teilweise Bindung zur Voraussetzung hat, trifft also für das Digitoxin nicht zu. Die unter 1 und 3 genannten Voraussetzungen werden auf S. 24 diskutiert werden.

---

[1] Storm van Leeuwen und J. W. le Heux, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 1919, Bd. 177, S. 250.

[2] Jendrassik, Arch. néerland. de physiol. de l'homme et des anim. 1925, Bd. 10, Hft. 3, S. 401.

[3] Storm van Leeuwen en v. d. Made, Nederlandsch tijdschr. v. geneesk., 1. Hälfte 1921, S. 3252.

[4] Kunz Krause, Kolloid-Zeitschr. Bd. 25, S. 136.

[5] Storm van Leeuwen und Von Scent Györgyi, Journ. of pharmacol. a. exp. therapeut. 1922, Bd. 18, S. 449.

[6] Hilgenberg und Thomann, Dtsch. Zeitschr. f. Chir. 1923, Bd. 180, Hft. 4/6, S. 267.

[7] Czyolars und Donath, Zentralbl. f. inn. Med. 1900, Bd. 21, S. 321.

[8] Zondek, Biochem. Zeitschr. 1921, Bd. 116, Hft. 1/6, S. 246.

[9] Beutner, Journ. of pharmacol. a. exp. therapeut. 1925, Bd. 25, S. 365.

[10] Storm van Leeuwen und J. W. le Heux, a. a. O.

Wenden wir uns jetzt wieder der auf S. 17 für pharmakologische Probleme formulierten de Haanschen Theorie zu. Nach Overton[1] dringen rasch in die Muskeln ein: einwertige Alkohole, Halogenkohlenwasserstoffe, Äther, Ester, Urethane, Aldehyde, Ketone, Nitrile; langsamer penetrieren: Glykole und Säureamide, noch langsamer: Glyzerin, Harnstoff; nicht merklich dringen ein: Pentite, Hexite, Hexose, Disaccharide und Aminosäuren. Er spricht gar nicht von arteigenen genuinen nativen Eiweißkörpern.

In meinen Versuchen habe ich erst mit vitalen Farbstoffen gearbeitet. Ich tat dies auch deshalb, weil schon mehrere Untersucher Analogien bemerkt haben zwischen Farbstoffen und den Digitalisglykosiden.

So haben Führer[2] und Sluyterman[3] das Methylviolett eingehend studiert. Dieser Farbstoff wird elektiv vom Herzmuskel gespeichert und er hat auf die Herzfunktion einen digitalisartigen Einfluß. Bethe[4] hat für viele saure Farbstoffe das Benehmen dem Herzmuskel gegenüber verfolgt. Wenn saure Farbstoffe in Zellen eindringen, denen kein freier Sauerstoff zur Verfügung steht, so werden sie hier reduziert.

Das entstehende farblose Leukoprodukt wird herausdiffundieren und neuer nicht reduzierter Farbstoff eintreten können. Bethe arbeitete mit den sauren Farbstoffen Thiocarmin und Indigotin. Obwohl beide Produkte keine im Mikroskop erkennbare Färbung des Herzmuskels bewirken, macht er doch ganz annehmlich, daß die Farbstoffe dennoch in das Zellinnere eingewandert sind. Dieser Autor trägt mit der Tatsache keine Rechnung, daß die sauren Farbstoffe (zwischen bestimmten p_H-Werten) an die Kolloide gebunden sind, welche Kolloide in jedem isolierten Organ vorhanden bleiben. Diese Bindung ist von Bennhold[5] noch einmal nachgewiesen.

Bei meiner Fragestellung ist es gerade diese Eigenschaft der sauren vitalen Farbstoffe, welche ich zu studieren habe, denn in dieser Beziehung verhält sich ihnen gegenüber das Digitoxin ähnlich. Die Frage: dringt der Eiweiß-Digitoxinkomplex in die Zelle ein, läßt sich vielleicht zuerst so studieren, daß man statt dessen irgendeinen Eiweiß-Farbstoffkomplex untersucht.

Versuche mit vitalen Farbstoffen.

Einem gut klopfenden isolierten Froschherzen an der Straubkanüle wurde, mit oder ohne Sauerstoffzufuhr, die zu untersuchende Farbstoff-

[1] Overton, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 1902, Bd. 92, S. 115.
[2] Führer, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1908, Bd. 59, S. 164.
[3] Sluyterman, Dissertation Utrecht 1911.
[4] Bethe, Biochem. Zeitschr. 1922, Bd. 127, S. 18.
[5] H. Bennhold, Kolloid-Zeitschr. 1927, Bd. 43, S. 328.

lösung einverleibt. Nach bestimmter Zeit wurde das Herz von der Kanüle lospräpariert und noch pulsierend mittels Kohlensäure befroren. Es wurden Gefrierschnitte angefertigt, welche unfixiert in Lävulose eingeschlossen und mikroskopisch untersucht wurden.

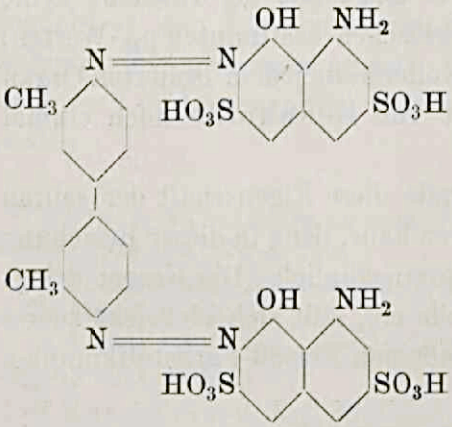
Ich löste jeden Farbstoff in artfremdes Serum, in arteigenes Serum und in Ringerlösung. Die von mir verwendeten sauren Farbstoffe waren u. a.: Trypanblau, Pyrrholblau und Säurefuchsin. Mit Bethe sah ich nie eine Färbung der Muskelfasern auftreten. Keine der untersuchten sauren vitalen Farbstoffe hatte eine digitalisartige Wirkung. Versuche mit Methylenblau hatten dasselbe Resultat.

Obwohl ich mit Bethe die Auffassung hege, daß diese Farbstoffe dennoch in das Muskelinnere durchdringen, habe ich ihr Benehmen nicht weiter untersucht.

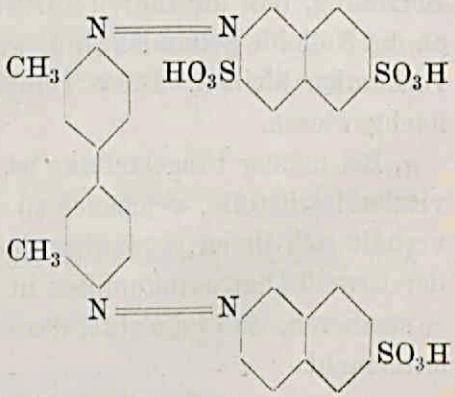
de Haan weist in seiner Publikation auf die Erfahrungen Bennholds[1] mit dem Brillantkongorot (Hollborn & Grübler, Leipzig) hin. Dieser saure vitale Farbstoff bindet sich nach Bennhold quantitativ an die Serumeiweiße bei weit auseinanderlaufenden p_H-Werten.

Der Strukturformel dieses Disazofarbstoffes gleicht der des Trypanblaus; das Brillantkongorot und das Trypanblau sind also nahe verwandt:

Trypanblau: (Tolidin < Amidonaphtholdisulfosäure / Amidonaphtholdisulfosäure)



Brillantkongorot (Krügener 1886) = (Tolidin < β Naphthylaminsulfosäure / β Naphthylamindisulfosäure)



Bennhold bringt ganz verschiedene Farbstoffe über 3 ccm genau gegen Phenolphthalein neutralisierte Gelatine 5% in Reagenzröhren. Die meisten sauren vitalen Farbstoffe in wässeriger Lösung dringen jetzt in die Gelatine ein. Das Brillantkongorot aber ist nicht imstande, in die Gelatine einzudringen, der Farbstoff färbt die Gelatine nicht und bleibt

[1] Bennhold, a. a. O.

an der Oberfläche liegen. Der Autor bringt ferner 2 ccm Serum über die Gelatine. Nach 4 Tagen wurde untersucht, bis wie weit das Serumeiweiß in die Gelatine vorgeschritten war. Zu diesem Zwecke wurden die Gelatineröhren in ein Kältegemisch gestellt (Kochsalz und Eis), die Reagenzröhren wurden zerbrochen und das gefrorene Gel in Scheiben von 2—4 mm Dicke geschnitten. Nach dem Auftauen wurde in jeder Gelatinescheibe reagiert mit:

Ehrlichs Dimethylaminobenzaldehyd,
Glyoxylsäure,
Sulfosalizylsäure,
Kochprobe mit Essigsäure.

Die ersten Reagenzien zeigen die Anwesenheit gebundenen Tryptophans an. Wo Gelatine kein Tryptophan enthält, so weist eine positive Reaktion auf die Tatsache hin, daß Serumeiweiß in die ursprüngliche Scheibe eingedrungen ist.

Es zeigte sich in dieser Weise, daß das Serum nach 4 Tagen bis auf 0,8 cm unter der Oberfläche vorgedrungen war. Jetzt wurde Brillantkongorot in Serum gelöst und in dieser Lösung über Gelatine gebracht. Nach 4 Tagen war die Gelatine rot gefärbt, eben bis 0,8 cm unter der Oberfläche, und genau bis an die Stelle, wo die Serumeiweißreaktionen noch positiv ausfielen.

Trypanblau in Ringer gelöst färbt nach 5 Tagen die ganze Gelatine diffus blau. Aber wenn man das Trypanblau mit Serum zusammen über Gelatine bringt, so reicht die blaue Farbe in der Gelatine nur so weit, wie das Serumeiweiß eingedrungen ist. Während man ohne Serum also einen ganz blauen Inhalt antrifft, ist mit Serum nur eine 1 cm dicke oberflächliche Schicht blau gefärbt. Basische Farbstoffe, wie Methylviolett, diffundieren leicht in die Gelatine. Hinzugefügtes Serum ändert an dieser Tatsache nichts.

Ich konnte Bennholds Befunde vollständig bestätigen. Nach 4 Tagen fand ich, mit oder ohne Serum, die ganze Gelatine vom Methylviolett gefärbt. Bennhold nennt den Einfluß, welchen das Serum auf die Permeation des Brillantkongorots in kolloidale Substanzen ausübt (welcher Einfluß also von überwiegender Wichtigkeit ist, denn sonst würde der Farbstoff gar nicht penetrieren), den embatischen Effekt des Serums. Nach Bennholds Auffassung gründet sich dieser embatische Effekt auf Peptisation des grobdispersen Farbstoffes.

Das Serumeiweiß würde imstande sein, die großen Farbstoffteilchen, welche nicht zwischen die Gelatineteilchen dringen können, in kleinere Teilchen zu sprengen, wodurch das Eindringen jetz möglich wird.

Inwieweit diese Auffassung zutrifft, kann ich nicht sagen, jedenfalls ist es interessant zu versuchen, ob dieselbe Tatsache auch für das Digitoxin besteht.

Ich verwendete genau dieselbe Methodik wie Bennhold. Die Reagenzröhren wurden während 1 Stunde in verdünnter Salzsäure gekocht und dann mit destilliertem Wasser ausgespült. Dann wurden sie $^1/_2$ Stunde im Trockenschrank auf 100° erhitzt. In steriler Weise konnte die reine neutralisierte Gelatine (Rijks Serologisch Instituut, Utrecht) in sie eingeführt werden. Genau wurde auf dem Glas verzeichnet, wo sich die Oberfläche der Gelatine befand. Dann wurde die zu untersuchende Lösung auf die erstarrte Gelatinesäule gegossen, und man ließ sie bei 15° C ruhig stehen. Nach gewissen Zeiten wurden die Röhren in Eis-Kochsalz gefroren und in Scheiben geschnitten. Zum Serumeiweißnachweis wurden die einzelnen Scheiben in Wasser gelöst und die auf S. 21 genannten Reaktionen ausgeführt. Zum Digitalisnachweis in den Scheiben trocknete ich die Gelatine auf 60°, zerrieb sie im Mörser und extrahierte mit absolutem Alkohol. Als die Gitalinfraktion untersucht wurde, extrahierte ich mit Chloroform. Der Extrakt wurde eingedampft, der Rückstand gelöst in Ringerlösung und in das isolierte Froschherz an der Straubkanüle eingeführt. Um sehr kleine Mengen Digitalisglykosid in den tiefsten Schichten nachzuweisen, wurden mehrere (vier) Scheiben aus entsprechenden Röhren zusammen verarbeitet. Die oberste Schicht von einer Dicke bis zu 4 mm entfernte ich, weil die aufgequollene Grenzschicht und die sofort darunterliegenden Lagen eine veränderte Gelstruktur haben, wie das von Pietrkowski[1] insbesondere für Strophanthin gezeigt wurde.

Ich habe die folgenden Digitalisglykoside auf ihre Permeationsfähigkeit aus Ringerlösung in Gelatine untersucht: Gitalin, Bigitalin, Lanogen (= Lanadigin von Mannich, Mohs und Mauss = Glykosid I aus Digitalis lanata), Lanatalin (= Glykosid III aus Digitalis lanata), Lanatoxin (das kumulierende Glykosid aus Digitalis lanata), Strophanthin und Digitoxin.

Ich konnte nur für das Lanatalin ein gewisses Eindringen in Gelatine nachweisen. Die übrigen genannten Digitaliskörper gehen nicht in die Gelatine ein.

Als dieselben Glykoside statt in Ringer in Serumverdünnungen (Kaninchen- und Froschserum) gelöst wurden, zeigte sich die folgende merkwürdige Tatsache: Gitalin, Bigitalin und Strophanthin dringen

[1] Pietrkowski, Biochem. Zeitschr. 1898, Bd. 123, S. 92.

auch jetzt nicht in die Gelatine ein. Dagegen verhält sich das Digitoxin genau ebenso wie Brillantkongorot. Während aus Digitoxin in Ringer 1:4000 nichts in die Gelatine eindringt, fand ich, als Digitoxin 1:4000 in Froschserum, in Kaninchenserum oder in Bauchhöhlenflüssigkeit gelöst über die Gelatine gebracht war, 4 Tage später eine deutliche Penetration des Glykosids. Die gefrorenen Gelatinekugeln wurden wie in den Brillantkongorotversuchen wie folgt geschnitten: Oberste Schicht von 4 mm nicht weiter untersucht; dann 4 Scheiben von je $2^1/_2$ mm und schließlich der Rest (5. Scheibe), welche sich also 1,4 cm unterhalb der Oberfläche befand.

Die genannten Eiweißreaktionen fielen jedesmal in der 5. Scheibe negativ aus. In den Scheiben 1—4 waren sie aber positiv. Das Serum war also vorgeschritten bis in die 4. Scheibe, das ist bis 1,15—1,4 cm unterhalb der Oberfläche. Die Extrakte der 5. Scheibe zeigten auf das Froschherz keine Digitoxinwirkung. Bei den Extrakten der 4. und anderen Scheiben tritt jedoch die Digitaliswirkung deutlich hervor. Dieser Versuch wurde wiederholt angestellt, immer mit demselben Resultat.

Wir sehen also, daß das Digitoxin wie die sonstigen Digitalisglykoside nicht imstande ist, in Gelatine hinein zu diffundieren. Sobald Serum da ist, dringt das Digitoxin aber in die Gelatine hinein, und zwar genau so weit wie Eiweiß nachweisbar ist: in diesen Versuchen bis in die 4. Scheibe. Meines Erachtens bildet diese Tatsache nicht nur einen weiteren Beweis dafür, daß das Digitoxin an das Serumeiweiß gebunden ist; es liegt hier überdies die Sicherheit vor, daß das Serum ebenso wie bei dem Brillantkongorot eine ganz wichtige Funktion ausübt bei dem Eindringungsprozeß des Digitoxins in die Gelatine.

Die Frage ist jetzt so zu formulieren:

Dringt der Eiweiß-Digitoxinkomplex ebenso wie in die Gelatine auch in die Herzzellen ein? Dabei kann es sich nur handeln um den Komplex mit arteigenem Eiweiß, während der Komplex mit artfremdem Eiweiß dann nicht aufgenommen werden darf.

Ein Vergleich zwischen dem isolierten Herzen und der Gelatine ist unmöglich: Die Gelatine enthält kein natives Eiweiß, das isolierte Herz enthält immer nicht nur extrazelluläres intramurales arteigenes Eiweiß, sondern sogar die Ringerflüssigkeit in der Straubkanüle ist nie, auch nicht nach wiederholtem Auswaschen, vollständig eiweißfrei. Das Digitoxin findet also immer arteigenes Eiweiß, woran es gebunden werden kann. Der Versuch, worin Digitoxin in Ringer gelöst über Gelatine gebracht wird, kann also am Herzen nicht reproduziert werden. In diesem isolierten Organ findet sich das Digitoxin entweder an arteigenes oder an einge-

führtes artfremdes Eiweiß gebunden. Dieser Umstand schließt die Möglichkeit aus, auf direktem Wege den Beweis zu erbringen, daß das Digitoxin nicht als solches, sondern nur in Verbindung mit Eiweiß (und zwar arteigenem Eiweiß) in die Herzzellen eindringen kann. Der Unterschied zwischen arteigenem und artfremdem Eiweiß läßt jedoch wieder die Möglichkeit eines Vergleiches mit Farbstoffen zu.

Das Eindringen von Brillantkongorot und Digitoxin in das Herz bei Anwesenheit von Eiweiß.

Beim Froschherzen zeigt sich eine Brillantkongorotlösung 1:150 in Ringer an der Straubkanüle tödlich. Das Herz zeigt keine Digitalissymptome wie bei Methylviolett. Es endet immer in diastolischem Stillstand. Die Herzmuskelfasern sind diffus rot gefärbt. Brillantkongorot dringt also mikroskopisch sichtbar in die Herzmuskelfasern ein, durch welches Benehmen dieser Farbstoff den übrigen sauren vitalen Farbstoffen gegenüber eine merkwürdige Sonderstellung einnimmt. Wenn das Brilliantkongorot statt in Ringer in verdünntem Froschserum gelöst wird, so tritt die Vergiftung des Herzens ebenso schnell ein, und die Muskelfasern sind ebenso stark gefärbt. Wenn jedoch die Lösung statt Froschserum artfremdes Eiweiß (Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit, Kaninchenserum 1:6, Katzenserum 1:6) enthält, so klopft das Herz in Brillantkongorot 1:150 normal weiter; die Herzmuskelfasern bleiben ungefärbt. Es gelingt auch mit stärkster Brillantkongorotlösung nicht mehr, das Herz zu vergiften, wenn artfremdes Eiweiß im Übermaß da ist.

Am isolierten Kaninchenherzen im Langendorffapparat ist eine Lösung von Brillantkongorot 1:2400 in Locke-Ringer tödlich. Mikroskopisch läßt sich hier eine Färbung, der geringen verwendeten Konzentration wegen, nicht nachweisen. Löst man jedoch den Farbstoff in Locke-Ringer, welche pro Liter 1 ccm artfremdes Serum oder $^1/_4$ Hühnereiereiweiß enthält, so klopft das Herz ohne toxische Symptome weiter. Artfremde Eiweiße verhindern also das Eindringen des Brillantkongorots in die Herzmuskelfasern. Löst man Brillantkongorot in Kaninchenserum (arteigenes), so ist die toxische Grenzdosis wieder dieselbe wie in Ringerlösung (1:2400).

Die auf S. 16 unter 1 und 3 genannten möglichen Eindringungsweisen des Digitoxins lassen sich jetzt näher betrachten.

Der direkte Beweis, daß der Eiweiß-Brillantkongorotkomplex in das unverletzte Herz (vgl. dagegen bei pathologischen Herzen S. 30) als Ganzes eindringt und nicht extrazellulär gespalten wird, ist nicht zu erbringen.

Es ist aber sehr unwahrscheinlich, daß man bei der extrazellulären Spaltung so große qualitative Unterschiede zwischen arteigenem und artfremdem Eiweiß finden würde. In diesem Falle müßte ja derselbe Kaninchenеiweiß-Farbstoffkomplex in der Nähe der Froschherzzellen nicht, in der Nähe der Kaninchenherzzellen wohl gespalten werden, während andererseits doch wieder der Froscheiweiß-Farbstoffkomplex wohl in der Nähe der Froschherzzelle angegriffen werden müßte. Die gewöhnlichen physikalisch-chemischen Einflüsse würden für eine solche Erscheinung nicht verantwortlich gemacht werden können.

Diese Möglichkeit habe ich überdies so weit wie möglich durch folgende Versuche und Erwägungen ausgeschlossen:

1. p_H-Verschiebungen bis zu 8,3 mittels $NaHCO_3$ 10% sind nicht imstande, das Brillantkongorot vom Eiweiß zu lösen, denn auch bei dieser p_H dringt bei Anwesenheit von Kaninchеneiweiß das Brilliantkongorot nicht in die Herzmuskelfasern des Frosches ein. Stärkere p_H-Verschiebungen sind in der Nähe der Herzmuskelzellen unmöglich, denn bei noch höherer p_H steht das Herz still. Ein Freiwerden des Farbstoffes durch irgendeinen Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration in der Nähe der Zellen ist also ausgeschlossen.

2. Weder durch Galle noch durch Saponine ist es möglich, den Eiweiß-Farbstoffkomplex zu spalten (Versuche am Froschherzen). Ein Freiwerden des Brillantkongorots durch eventuelle oberflächenspannungerniedrigende Substanzen in der Nähe der Herzmuskelzellen ist also ebenfalls auszuschließen.

3. Eine eventuelle Adsorptionsverschiebung zwischen Eiweiß und Herzzelle könnte unmöglich den Unterschied zwischen arteigenem und artfremdem Eiweiß erklären.

Soweit ich sehe, bleibt dann keine andere Möglichkeit übrig als eine schnelle extrazelluläre Verdauung nur des arteigenen Eiweißes.

Solange die dafür benötigten extrazellulären Fermente nicht im Herzen experimentell nachgewiesen sind, kann ich diese Möglichkeit nicht anerkennen.

Es bleibt also nichts anderes übrig als anzunehmen, daß der Komplex arteigenes Eiweiß-Brillantkongorot ungespalten durch die Herzmuskelzelle aufgenommen wird.

Ich habe versucht mittels des Refraktometers von Abbe nachzuweisen, ob das isolierte Herz imstande ist, aus einer Eiweißlösung Kolloide aufzunehmen. Mit dieser Methode und auch mit 20%iger Sulfosalicylsäure ließ sich bestimmen, daß ein solches Froschherz im Gegenteil beträchtliche Quantitäten Eiweiß der Ringerlösung sowohl wie den arteigenen

Eiweißlösungen abgibt. Besonders ein durch Alkohol verletztes Herz oder ein 24 Stunden altes isoliertes Präparat gibt der Lösung deutlich Eiweiß ab. Läßt man ein isoliertes sorgfältig ausgewaschenes Herz in Ringer pulsieren, so läßt sich schon nach 5 Stunden abgegebenes Eiweiß nachweisen. Dies geschieht ebensogut in Froschserum, ein für das Herz äußerst günstiges Milieu. Es ist also nicht gelungen, hier eine Eiweißaufnahme nachzuweisen, weil die Abgabe jedenfalls größer war als die eventuelle Aufnahme. Wo wir aber jetzt sehen, daß eine Permeabilität für Eiweiß von innen nach außen besteht, spricht das eher für als gegen die Möglichkeit einer Permeabilität von außen nach innen. Übrigens zeigt der folgende Versuch, daß wenigstens unter besonderen Bedingungen Eiweiß in das Herz hineinwandern kann.

Ein Froschherz an der Straubkanüle, gespeist mit Ringer, wurde vergiftet durch Hinzugabe von 6% Alkohol zur Speiseflüssigkeit. Die Alkohollösung wurde entfernt. Ich führte in das Herz eine Brillantkongorotlösung 1:800 in isotonischer Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit ein. Nach 1 Stunde zeigte sich diese Lösung entfärbt, die zuvor positive Eiweißkochreaktion (Eiweißgehalt der Bauchhöhlenflüssigkeit $= 1^1/_2$—$2^1/_2$%) war jetzt verschwunden, und die Muskelfasern hatten sich diffus rot gefärbt.

Die Schlußfolgerung muß also gezogen werden, daß das Brilliantkongorot, an arteigenes oder an artfremdes Eiweiß gebunden, mit diesem Eiweiß zusammen von den durch Alkohol vergifteten Herzmuskelzellen aufgenommen wird. Für das unvergiftete Herz bildet dieser letzte Versuch an sich zwar keinen Beweis. Im Zusammenhang jedoch mit allen oben angeführten vier Tatsachen bildet derselbe doch wieder ein weiteres Argument für die Auffassung, daß der Komplex: Eiweiß-Brillantkongorot ungespalten von der Herzmuskelzelle aufgenommen wird; d. h., daß die Herzmuskelzelle permeabel ist für das arteigene Eiweiß.

Zwischen Brillantkongorot und Digitoxin bestehen weitgehende Übereinstimmungen: Bindung an Eiweiß in vitro, analoge Permeation in Gelatine, Ungiftigkeit für das isolierte Herz, wenn an artfremdes Eiweiß gebunden. Durch Trypsin oder Pepsin lassen sich sowohl Digitoxin wie Brillantkongorot wieder frei machen. Das Brillantkongorot wird ebenso wie Digitoxin elektiv aus einer Lösung in Ringer oder arteigenem Serum gespeichert.

Dagegen sind die auf S. 25 angeführten Gründe, worauf eine Spaltung des Brillantkongorot-Eiweißkomplexes ausgeschlossen wurde, nicht für den Digitoxin-Eiweißkomplex zutreffend. Denn durch p_H-Verschiebung auf 8,3, durch Galle und durch Saponin läßt sich der Digitoxin-Eiweißkomplex sprengen.

Auch koagulierte Eiweißkörper (durch Kochen mit Essigsäure und nachherige Neutralisierung entstanden) fahren fort, den Farbstoff quantitativ zu binden, im Gegensatz zu Digitoxin. Digitoxin läßt sich nicht von Aluminiumhydroxyd B. adsorbieren; Brillantkongorot dagegen wird fast quantitativ vom genannten anorganischen Gel gebunden. Interessant ist weiter, wie in inaktivierter artfremder Bauchhöhlenflüssigkeit oder Serum das Brillantkongorot ebensowenig das Froschherz färbt (also quantitativ gebunden ist). Das Digitoxin wurde im Gegensatz dazu nicht länger quantitativ von diesen inaktivierten Körpereiweißen adsorbiert.

Alle diese Unterschiede zwischen Brillantkongorot und Digitoxin sind quantitative physisch-chemische; prinzipielle Unterschiede bestehen hier nicht. Weiter lassen sich die folgenden zwei biologischen Unterschiede anführen:

1. Während die Digitoxinwirkung irreversibel ist (weder durch Auswaschen mit Ringer noch mit arteigenem Serum), läßt sich ein durch Brillantkongorot stillgelegtes Herz wieder durch Auswaschen mit Ringer zum Schlagen bringen; das Herz entfärbt sich dabei, die Ringerlösung färbt sich rot.

2. Die Aufnahme von Methylviolett durch das isolierte Froschherz wird durch Digitoxin beschleunigt, dagegen durch Brillantkongorot gehemmt (eventuell aufgehoben).

Es ist natürlich keineswegs zu verwundern, daß zwei Substanzen, mögen sie auch in physisch-chemischer Hinsicht viel Übereinstimmung zeigen, doch auch noch Unterschiede aufweisen. Es ist daher nicht von vornherein sicher, daß alles, was vom Brillantkongorot bewiesen ist, auch für Digitoxin zutreffen muß. Wenn man jedoch die Frage praktisch auffaßt, so handelt es sich nur hierum: ob das Herz ebenso wie es den Komplex Eiweiß-Brillantkongorot aufzunehmen imstande ist, auch Eiweiß-Digitoxin „phagocytieren" kann. Der einzige Fall, worin möglicherweise Digitoxin in anderer Weise vom Herzen aufgenommen werden könnte als Brillantkongorot, könnte dieser sein, daß in der Nähe der Herzzellen entweder eine p_H von 8,3 bestände, oder daß sich hier oberflächenspannungerniedrigende Substanzen befänden, welche den Eiweiß-Digitoxinkomplex zerlegen könnten.

Diese Möglichkeiten, obgleich sie nicht mit mathematischer Sicherheit auszuschließen sind, sind auf S. 25 schon kritisiert worden. Jedenfalls bilden sie eine unnötige Voraussetzung, ohne welche die Digitoxinaufnahme ganz einfach erklärt werden kann.

Wenn die Zelle imstande ist einen Eiweiß-Farbstoffkomplex als solchen aufzunehmen, muß ihr doch zweifellos auch dieselbe Fähigkeit für einen Eiweiß-Digitoxinkomplex zukommen.

Bei dem jetzigen Stande der Wissenschaft kann man annehmen, daß das Digitoxin, welches an arteigenes Eiweiß gebunden ist, mit diesem Eiweiß zusammen in das Herzzellinnere eindringt.

Ob das Glykosid in das Herz (wie in die Gelatine) nur mittels dieses Eiweißes eindringen kann oder ob es auch im hypothetischen Falle, daß kein Eiweiß anwesend ist, frei hineindiffundieren kann, darüber geben meine Versuche keinen Aufschluß.

Es liegt auf der Hand zu fragen, ob die Speicherung des Digitoxins mit der Eiweißbindung zusammenhängt. Dies kann aber höchstens teilweise der Fall sein, denn auch Substanzen, welche nicht an Serumeiweiß gebunden sind, werden gespeichert: Methylviolett am Froschherzen, Strophanthin nach Weese[1] am Säugetierherzen usw.

Daß das Methylviolett sich nicht an das Eiweiß bindet, habe ich noch besonders untersucht, obwohl es bekannt ist, daß basische vitale Farbstoffe sich im allgemeinen nicht quantitativ an Eiweiß binden. Methylviolett, in Ringerlösung oder in Serum über Gelatine gebracht, diffundiert immer in 4 Tagen bis an den Boden der Röhren, während das Eiweiß weniger tief vordringt.

Für das isolierte Froschherz ist das Methylviolett ebenso toxisch in artfremdem Serum als in arteigenem Serum oder in Ringerlösung. Das Herz färbt sich dabei immer gleich stark. Die Eindringungsweise des Methylvioletts in das Herz kann also wahrscheinlich als eine einfache Diffusion aufgefaßt werden.

Gitalin, Bigitalin und andere Glykoside, welche sich nicht an Eiweiß binden, werden wohl in gleicher Weise in das Herz penetrieren.

Es ist vorläufig nicht möglich, die de Haansche Theorie auch anzuwenden auf Gifte, welche sich an Lipoide binden. Die bekannten Glykoside (s. S. 12), welche von der Lipoidfraktion des Blutes festgehalten werden, bedürfen also in dieser Hinsicht eines näheren Studiums.

Alles oben Angeführte betrifft die Aufnahme der Glykoside durch das Herz. Es steht fest, daß auch anderswo im Körper Digitalisglykoside aufgenommen werden (s. u. a. Weese[2]). Ich habe einen Versuch angestellt mit einer Monocytensuspension, welche aus der Bauchhöhle eines Kaninchens nach der von de Haan[3] beschriebenen Methode erhalten war. Diese Monocytensuspension enthält nur spärliche Polynukleären und Lymphocyten. Wurde dieser Suspension in Ringer Digitoxin zugesetzt,

---

[1] Weese, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1928, Bd. 135, S. 228.

[2] Derselbe, Ebenda 1929, Bd. 141, S. 329.

[3] J. de Haan, Arch. f. exp. Zellforsch. 1927, Bd. 3, S. 219. Nederlandsch tijdschr. v. geneesk. 1924, Bd. 68, S. 2110.

nach einiger Zeit abzentrifugiert, die Monocyten wiederholt gewaschen, dann getrocknet und mit Alkohol extrahiert, so fand sich das Glykosid zum größten Teil in diesem alkoholischen Extrakt.

Auch diese Monocyten sind also imstande, Digitoxin aufzunehmen. In der sie umgebenden Flüssigkeit war immer Eiweiß anwesend, so daß auch hier die Möglichkeit einer Aufnahme von Digitoxin in der Form des Eiweiß-Digitoxinkomplexes vorliegt.

Für die quergestreifte Muskulatur bestehen Untersuchungen von Fraser und Tillie[1] und von Buchbinder[2]. Sie sind der Meinung, daß Digitoxin nicht in die quergestreiften Muskelzellen eintritt. Die Erfahrung vieler Forscher, welchen es nicht gelang, Digitoxin in Muskeln oder anderen Organen nachzuweisen, lehrt, daß ein direkter chemischer Nachweis hier unmöglich ist. Ich habe mich daher auf eine Untersuchung des Brillantkongoroteintritts in die quergestreiften Muskeln von kaltblütigen Tieren beschränkt. Ich durchströmte Frösche mit Lösungen von Brillantkongorot 1:800 in Ringer. Ich verwendete die Trendelenburgsche Versuchsaufstellung. Eine dünne Kanüle wurde in die Bauchaorta eingebracht und hierdurch die Farbstofflösung eingeströmt. Die rot gefärbte Flüssigkeit kam wieder aus der Bauchvene hervor, nachdem sie die Hinterbeine durchströmt hatte. Es zeigte sich, daß die quergestreiften Muskelfasern sich nicht mit dem Farbstoff färbten. Ich habe darauf einem durchströmten Frosch rhythmisch jede 5 Sekunden den N. ischiadicus elektrisch gereizt, um zu sehen, ob vielleicht ein funktionierender Muskel für Brillantkongorot permeabel würde, aber auch dies war nicht der Fall. Es ergibt sich hier also ein merkwürdiger Unterschied zwischen dem Herzmuskel und dem quergestreiften Muskel; es zeigt sich nämlich, daß diese Muskelarten dem Brillantkongorot gegenüber eine wesentlich andere Permeabilität haben. Es scheint mir höchst wahrscheinlich, daß, dem Digitoxin gegenüber, die beiden Muskelarten sich ebenfalls verschieden verhalten, in dem Sinne, daß der Herzmuskel für das Digitalisglykosid zugänglich ist, der quergestreifte Muskel aber nicht.

Es ergibt sich also, daß man nicht alle Organe einander gleichstellen kann:

Die Monocyten, welche dem stark phagocytierenden Retikuloendothelialsystem angehören, nehmen das Digitoxin leicht auf, die quergestreiften Muskelfasern wahrscheinlich nicht.

---

[1] Fraser und Tillie, Arch. internat. de pharmaco-dyn. et de thérapie 1899, Bd. 5, S. 349.

[2] Buchbinder, Proc. soc. exp. biol. e. med. 1930, Bd. 27, S. 543.

Die Aufnahmefähigkeit der einzelnen Gewebe für native genuine Eiweißkörper wird für die Digitoxinaufnahme wahrscheinlich entscheidend sein.

Dies läßt sich nicht von Gitalin und Bigitalin sagen.

Das Eindringen von Brillantkongorot und Digitoxin in das Herz in pathologischen Umständen.

Kliniker sowohl wie Pharmakologen haben schon öfters bemerkt, daß unter abnormen Bedingungen die Empfindlichkeit von Menschen, Tieren und sogar isolierten Herzen der Digitalis gegenüber eine andere sein kann.[1]

Von dieser veränderten Empfindlichkeit kann ich hier zwei neue Beispiele anführen, welche den Vorteil bieten, daß sie zugleich zeigen, worauf die geänderte Empfindlichkeit beruht:

1. Alkoholvergiftung. Die Empfindlichkeit von durch Alkohol vergifteten Herzen für Digitoxin ist eine größere. Die tödliche Dosis für normale isolierte Froschherzen (R. esc.) liegt bei 1:100000 bis 1:60000. Durch Alkohol verletzte Herzen endigen nach kurzer Zeit in Digitoxinlösungen 1:175000 bis 1:100000.

Isolierte Froschherzen bekamen Verdünnungen von Alkohol; im allgemeinen klopften diese Herzen weiter in Verdünnungen Ringer:Alkohol = 16:1. Die meisten Herzen wurden allmählich verletzt, indem jede 5 Minuten die Alkoholkonzentration erhöht wurde.

Andere Male wurde das Herz sofort durch eine hohe Alkoholdosis vergiftet. In dem Augenblick, worin diese Herzen diastolisch endeten, wurde schnell und wiederholt mit Ringer gewaschen, bis das Herz wieder spontan schlug. Meistens schlug das Herz dann erst langsam und unregelmäßig, oft waren die Hubhöhen größer als vor der Alkoholvergiftung, wie auch von Toyoshima Junkichi[2] bemerkt worden ist. Wie schon auf S. 26 mitgeteilt wurde, gibt ein solches mit Alkohol behandeltes Herz viel mehr Eiweiß ab als ein normales. Auf S. 26 findet sich auch schon die Mitteilung, daß ein solches Herz permeabel ist für Brillantkongorot, das an artfremdes Eiweiß gebunden ist und hier sicher zugleich mit dem artfremden Eiweiß aufgenommen worden ist. Die mit Alkohol vergifteten

[1] Edens, Die Digitalisbehandlung, Berlin 1916. — Stokvis, Nederlandsch tijdschr. v. geneesk, Feestbundel Donders 1888, S. 465. — Bijlsma und Roessingh, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1922, Bd. 94, S. 235. — Rost, Ebenda 1923, Bd. 97, S. 386. — Sollmann, usw., Journ. of pharmacol. a. exp. therapeut. 1914, Bd. 6, S. 533.

[2] Toyoshima Junkichi, Fol. Japon. Pharmakol. 1928, Bd. 8, S. 12.

Herzen bekamen eine Digitoxinlösung 1:8000 bis 1:20000 in isotonisch gemachter Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. Die entgiftende Wirkung dieser Flüssigkeit war verschwunden und die Herzen endeten schnell in Systole. Die Digitoxinlösungen hatten jetzt ihre völlige Toxizität behalten. Auch der Digitoxin-Kaninchenei weißkomplex kann also jetzt in die Herzzellen eindringen und Digitalissymptome treten auf.

Ja es zeigte sich in meinen Versuchen, daß, wenn ein Herz auf bestimmte Alkoholkonzentrationen weiterklopfte ohne abnorme Symptome, dasselbe Herz ebenfalls gleich starke alkoholische Digitoxinlösungen in Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit ertrug. Mit anderen Worten: ein Herz erträgt diejenige Digitoxinkonzentration gelöst in artfremdem Material, worin die Alkoholkonzentration (notwendig um das Digitoxin zu lösen) eine unschädliche ist für dasselbe Herz.

Ich konnte also durch Feststellung der unwirksamen Alkoholgrenzdosis für ein gewisses Herz voraussagen, wieviel in Alkohol gelöstes Digitoxin dieses Herz in artfremdem Material ertragen würde.

Zum Beispiel, meine Digitoxinlösung in Alkohol hatte eine Konzentration 1:500; 1 ccm dieser Alkohollösung brachte ich in 15 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit; die Digitoxinkonzentration war jetzt also 1:8000 und die Alkoholkonzentration 1:16. Diejenigen Herzen, welche ohne Schaden Alkohol in Ringer 1:16 ertragen, klopfen ebenfalls weiter in einer Digitoxinlösung 1:8000 in Bauchhöhlenflüssigkeit.

Diejenigen Herzen, welche Alkoholvergiftungssymptome zeigen in Alkohol-Ringer 1:16, stehen schnell in digitalisartiger Weise still, wenn denselben eine Digitoxinlösung 1:8000 in Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit zugesetzt wird. Erträgt das Herz alkoholische Lösungen in Ringer von 1:10, so erträgt es auch Digitoxin 1:5000 in artfremdem Material (Alkoholkonzentration 1:10). Mit dieser Arbeitsmethode fand ich Herzen, die durch Digitoxinlösungen 1:2000 noch nicht vergiftet wurden (die tödliche Dosis von Digitoxin in Ringer ist nie höher als 1:60000).

Aus dem Gesagten geht hervor, daß Alkohol auf die Froschherzzelle einen Einfluß ausübt, wodurch diese Zelle ganz andere Permeabilitätsverhältnisse aufweist.

War die Zelle von vornherein artfremdem Eiweiß unzugänglich, nach Alkoholvergiftung läßt sie dieses Eiweiß eintreten. Dies erklärt die auftretenden Digitalissymptome und die dann auftretende Färbung mit Brillantkongorot, wenn das Eiweiß mit diesen Substanzen beladen ist.

2. Anaphylaktische Herzen. Eine folgende Versuchsreihe bildet die Untersuchung von gegen das Kaninchen sensibilisierten Fröschen.

Fride und Ebert[1] zeigten, daß Kaninchenserum nicht toxisch ist für Frösche. Die Frösche werden leicht und sicher anaphylaktisch. Ausführlich hat P. Rylant das Benehmen des sensibilisierten Herzens dem Antigen gegenüber studiert[2].

Dieser Autor arbeitete mit Kaninchen, welche gegen Pferdeserum anaphylaktisch gemacht waren. Pferdeserum wurde in das isolierte Herz dieses Kaninchens gebracht. Es ergab sich eine Frequenzvermehrung mit großen Schwankungen in der Pulszahl. Die Vorhoffunktion änderte sich aber nicht.

Manwaring und Williams[3] zeigten, daß ein Kaninchenherz im Apparat von Langendorff eine größere Resistenz hat gegen Ziegenserum, wenn das Kaninchen zuvor gegen Ziegenserum sensibilisiert worden war.

Ich spritzte an 3 aufeinanderfolgenden Tagen jeden Tag Fröschen 1 ccm Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit in den Lymphsack. 9 Tage nach der letzten Injektion wurden die Frösche dezerebriert und wurde untersucht, ob sie anaphylaktisch seien. Alle zeigten einen schönen anaphylaktischen Shock mit Herz- und Atembeschleunigung, Rückenlage und Krämpfe.

Die Herzen sensibilisierter Frösche wurden an der Straubkanüle präpariert und in Ringer ihr normales Benehmen beobachtet. Hierauf wurde die Ringerlösung durch isotonische Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit ersetzt. In der ersten Versuchsreihe zeigten sich drei der sechs Herzen unfähig, in der Kaninchenеiweißlösung weiterzuklopfen. Die übrigen drei Herzen zeigten fraktionierte gruppierte Kontraktionen, welche an sich Unregelmäßigkeiten hatten und zwischen denen Pausen fielen von 2—10 Minuten.

Die Herzen endeten in diastolischem Stillstand, jedoch trat dieser Stillstand nie früher als 3 Stunden nach dem Speiseflüssigkeitswechsel ein.

Ich stellte jetzt zehn sensibilisierte Herzen auf, welche ich in isotonischer Bauchhöhlenflüssigkeit plus Digitoxin 1:8000 klopfen ließ.

Die in den oben beschriebenen Versuchen beobachteten Rhythmusstörungen bzw. Stillstände kamen jetzt nicht vor.

Alle Herzen klopften regelmäßig weiter, jedoch trat in einigen Sekunden eine ausgesprochene Frequenzzunahme ein. Ohne Rhythmusstörungen, ohne gruppenweise Kontraktionen, ohne irgendwelche Pausen

---

[1] Fride und Ebert, Trudy mikrobiol. Naucno-isslectova tel skogo inst. Bd. 2, S. 95.

[2] P. Rylant, Arch. intern. d. physiol. 1924, Bd. 23, S. 61 u. 375.

[3] Manwaring und Williams, Journ. of immunol. 1923, Bd. 8, S. 75.

wurden die Kontraktionen immer kleiner und erhoben sich dabei ihre Fußpunkte, bis ein systolischer Stillstand eintrat. Die Zeit, nach welcher das Herz stillstand, betrug durchschnittlich 45 Minuten. Wenn man ein normales oder ein sensibilisiertes Herz mit derselben Digitoxinkonzentration in Ringer vergiftet, so steht das Herz durchschnittlich nach 2 Minuten still (s. Abb. 2).

Es zeigt sich also, wie für anaphylaktische Herzen (abgesehen von der Zeit, nach welcher der endgültige Stillstand eintritt) das artfremde Eiweiß (= Antigen) nicht mehr imstande ist, das Gift, welches quantitativ an das Eiweißantigen gebunden ist, zu entgiften. In einer Zeiteinheit aber kann nur eine ganz geringfügige Menge Gift in das Herz eindringen. Das wird wohl so zu erklären sein, daß nur sehr kleine Mengen artfremdes Eiweiß eindringen, und damit auch das Digitoxin sehr langsam penetriert und zur Wirkung gelangt.

Mit der Brillantkongorotmethode habe ich den ganzen Versuch wiederholt. Das beladene Antigen (Kaninchenеiweiß-Brillantkongorot) war imstande, einen anaphylaktischen Shock hervorzurufen.

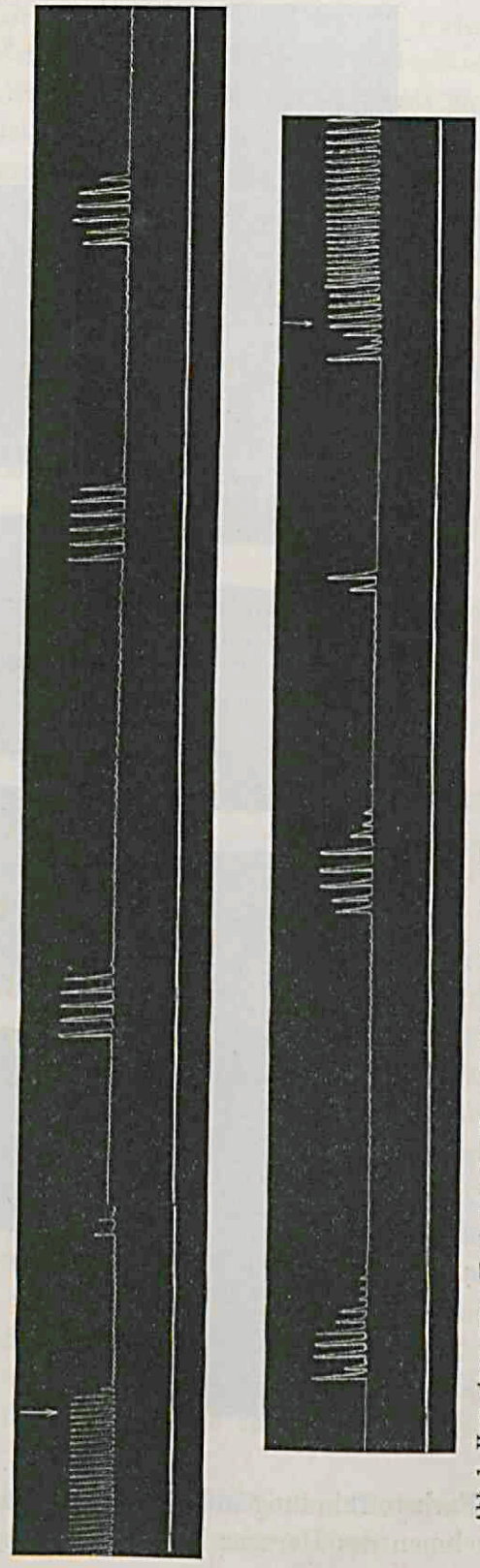


Abb. 1. Herz eines gegen Kaninchеneiweiß sensibilisierten Frosches (Rana esculenta) an der Straubkanüle. Beim ersten Pfeil wird die Ringerflüssigkeit gewechselt gegen froschisotonisch gemachte Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. Beim zweiten Pfeil wird wieder mit Ringer ausgewaschen.

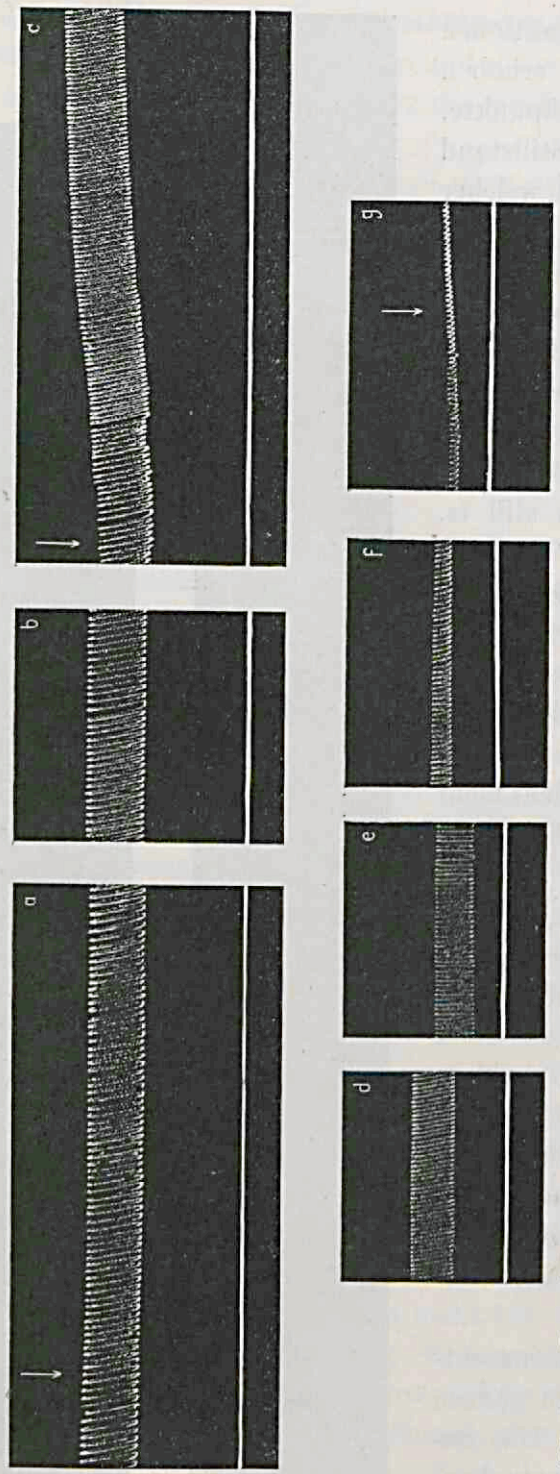


Abb. 2. a: Herz eines gegen Kaninchenei weiß sensibilisierten Frosches (Rana esculenta) an der Straubkanüle. Beim ersten Pfeil wird die Ringerflüssigkeit gewechselt gegen froschisotonisch gemachtes Katzenserum 1:6 mit Digitoxin 1:8000; b: dasselbe Herz nach 10 Minuten; c: beim Pfeil wird das Katzenserum gewechselt gegen froschisotonisch gemachte Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit + Digitoxin 1:8000; d: nach 10; e: nach 45; f: nach 60; g: nach 75 Minuten. Beim Pfeil wird die Digitoxinlösung verwechselt gegen Ringer. Nicht auswaschbar. Systolischer Stillstand. Die Abszisse von d—g ist eine andere als von a—c.

Die Farbstoffbindung änderte also die Artspezifität des Eiweißes nicht. Das Benehmen des Herzens in dieser Lösung war dem Verhalten in Bauch-

höhlenflüssigkeit ohne Farbstoff gleich. Mikroskopisch ließ sich in einem anaphylaktischen Herzen, klopfend auf eine Brillantkongorotlösung 1:800, in isotonischer Bauchhöhlenflüssigkeit aber nie Farbstoff nachweisen. Beweist dies, daß kein Farbstoff und also auch kein Eiweiß in die Herzzellen eingedrungen ist? Meines Erachtens ist die Sache nicht so einfach. Für den mikroskopischen Nachweis muß ziemlich viel Farbstoff eingedrungen sein.

Wenn wenig Farbstoff penetriert ist, läßt sich derselbe nicht nachweisen. Die Möglichkeit ist also nicht ausgeschlossen, daß auch hier kleine Mengen Eiweiß-Farbstoffkomplex in die Herzzellen eingetreten sind.

Zusammenfassung.

Brillantkongorot und Digitoxin, in wässeriger Lösung über Gelatine gebracht, dringen nicht in die Gelatine ein.

Werden die beiden genannten Substanzen in Serum oder Bauchhöhlenflüssigkeit gelöst, so sind sie imstande in die Gelatine einzudringen. Man findet dann den Farbstoff ebenso wie das Digitoxin genau so weit vorgedrungen wie die Serumeiweiße. So weit dies das Brillantkongorot betrifft, ist dies eine Bestätigung der Befunde von Bennhold.

Die sonstigen Digitalisglykoside mit Ausnahme von Lanatalin dringen weder aus der wässerigen noch aus der Lösung in Serum oder Bauchhöhlenflüssigkeit in die Gelatine ein. Das Lanatalin findet man in geringer Menge in der Gelatine.

Brillantkongorot, gelöst in Ringer oder in arteigenem Serum, färbt (im Gegensatz zu anderen sauren Farbstoffen) die Froschherzmuskelfasern diffus rot. Wenn gelöst in artfremdem eiweißhaltigem Material, färbt es die Muskelfasern nicht, und ist jetzt auch atoxisch. Es verhält sich also ebenso wie das Digitoxin, dessen Wirkung auch durch artfremdes Eiweiß aufgehoben wird, nicht durch arteigenes. Aus dieser Analogie wird der Schluß gezogen, daß das an artfremdes Eiweiß gebundene Digitoxin nicht in das Herzzellinnere eindringen kann, daß aber der Komplex Digitoxin-arteigenes Eiweiß als Ganzes von der Zelle aufgenommen wird.

Es wird diskutiert, daß andere in Betracht kommende Möglichkeiten (unvollständige Bindung oder Lösen der Bindung) ausgeschlossen werden können. Es ist, weil immer arteigenes Eiweiß im Herzen anwesend ist, unmöglich zu untersuchen, ob Digitoxin auch ohne Eiweiß vom Herzen aufgenommen werden kann.

Methylviolett sowie Gitalin, Bigitalin, Lanatalin, Lanatoxin und Strophanthin werden als solche von der Herzzelle aufgenommen.

Das durch Alkohol vergiftete Froschherz wird durch Brilliantkongorot in artfremdem Eiweiß auch rot gefärbt. Ebenso wird das durch Alkohol verletzte Herz vergiftet durch Digitoxin, das an artfremdes Eiweiß gebunden ist. Es ergibt sich daraus, daß das durch Alkohol vergiftete Herz für artfremdes Eiweiß permeabel geworden ist.

Die Entgiftung von Digitoxin durch artfremdes Eiweiß ist auch aufgehoben für Herzen von Fröschen, welche gegen dieses Eiweiß sensibilisiert worden sind.

III. Die Zusammensetzungen der galenischen Präparate aus dem Blattpulver von Digitalis purpurea und Digitalis lanata.

Die physiologische Wertbestimmung der Digitalispräparate zeigt uns die Gesamtwirkung aller darin enthaltenen Aktivglykoside, ausgedrückt in Katzen- oder Froscheinheiten. Wie in einer früheren Mitteilung (II) schon angeführt, ist es keineswegs erlaubt, alle Digitalisglykoside als gleichwertig zu betrachten. Es ist daher von besonderer Wichtigkeit, nicht nur die Gesamtstärke der Blätter und der hieraus bereiteten Präparate zu kennen, sondern auch die quantitative Zusammensetzung dieser Heilmittel. Das mag vielleicht bei dem Blattpulver selber nicht sehr wichtig scheinen, seit Straub[1] und Meyer[2] gezeigt haben, daß hierin das Verhältnis Digitoxin : Gitalin : Bigitalin (= Digitalein) ein nahezu konstantes ist, und zwar etwa 1:1:1. Für die galenischen Präparate besitzen wir jedoch keine solchen Angaben. Es ist sicher, daß sich in diesen Präparaten ein anderes Verhältnis finden wird, und auch die Präparate untereinander sehr verschieden sein werden. Der Therapeut wird aus den galenischen (und Handels-) Präparaten keine Wahl treffen können, wenn er die quantitative Zusammensetzung nicht weiß.

Mein Befund (Mitteilung I), daß man mit Hilfe von nativen genuinen Eiweißen das Digitoxin isolieren kann, gibt die Möglichkeit, dieses Glykosid quantitativ aus allen Präparaten zu entfernen und quantitativ zu bestimmen. Die übrigen Glykoside können dann mittels Chloroform getrennt werden in die chloroformlösliche (Gitalin-) und die chloroformunlösliche (Bigitalin-) Fraktion.

Nachdem verschiedene Schwierigkeiten überwunden waren, gelang es, eine zuverlässige und genaue Methodik auszuarbeiten.

---

[1] W. Straub, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1916, Bd. 80, S. 52. Münch. med. Wochenschr. 1917, Nr. 16, S. 513–515.

[2] E. Meyer, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1917, Bd. 81, S. 260.

Die Wertbestimmung der erhaltenen Fraktionen wurde grundsätzlich nach der Methode Hatcher-de Lind van Wijngaarden gemacht.

Methodisches.

In der Mitteilung I habe ich bewiesen, daß das Digitoxinum Purissimus „Merck" sich an genuine native Eiweiße bindet. Diese Bindung wird durch p_H-Verschiebung nach der alkalischen Seite hin und unter anderem durch Saponine aufgehoben.

In allen galenischen Produkten gibt es nun gerade diese die Oberflächenspannung erniedrigenden schaumbildenden Substanzen. Wenn man also Serum mit z. B. Infusum Digitalis purpurea mischt, so bindet sich das Digitoxin wegen der Saponine nicht an die Eiweiße des Serums. Es ist also notwendig, jedesmal vor dem Serumzusatz die Saponine zu entfernen. Dies geschieht am besten mit Cholesterin, wie Windaus[1] angibt. Karaúlow[2] zeigte an dem isolierten Froschherzen, daß das Purpureainfus nicht in merkbarer Weise seinen Wirkungswert verliert, wenn es mit Cholesterin vorbehandelt worden ist. Oppenheimer[3] bestätigte das für die reinen Glykoside. Die von Kraft und Kiliani isolierten Digitsaponine aus Digitalis purpurea hatten keine digitalisartige Wirkung.

Ich löste den durch Abfiltrieren erhaltenen Cholesterin-Saponinkomplex in Chloroform. Nach 2 Stunden waren die nicht in Chloroform löslichen Saponine in feinen Nadeln auskristallisiert und sie konnten abfiltriert werden.

Mit Chloroform gewaschen und gelöst in Ringer und dann ins Froschherz an die Straubkanüle geführt, verursachten sie keine Digitalissymptome. Durch hohe Dosen stand das Herz diastolisch still. Die Wirkung war der anderer untersuchten Saponine (Saponin. Puriss. Merck) gleich.

Zur Feststellung, daß bei dieser Entfernung der Saponine kein Verlust an Totalwirksamkeit eintritt, habe ich mit der Methode von de Lind van Wijngaarden geeicht: Infusum Digitalis purpurea 0,5/100; saponinarmes Infusum purpurea; Tinctura Digitalis purpurea zubereitet mit absolutem Alkohol, saponinfreie Tinctura Digitalis purpurea (wie oben); Tinctura purpurea, der eine erhebliche Masse Saponine, herrührend aus 60 ccm ähnlicher Tinktur, hinzugefügt wurde; Liquor Digitalis purpurea (Ned. Pharm. Ed. V), saponinfreier Liquor purpurea, Liquor purpurea,

[1] Windaus, Ber. d. dtsch. chem. Ges. Bd. 42, S. 238.
[2] Karaúlow, Biochem. Zeitschr. 1911, Bd. 32, S. 145.
[3] Oppenheimer, Ebenda 1913, Bd. 55, S. 134.

dem Saponin Puriss. Merck 1:200000 hinzugefügt wurde; Strophanthin 1:200000 in Ringerlösung, Strophanthin 1:200000 plus Saponin Puriss. Merck 1:50000, Strophanthin 1:200000 plus Saponin Puriss. Merck 1:100000.

Es zeigte sich, daß es gar keinen Einfluß auf die tödliche Dosis des Produktes ausübte, ob die Saponine entfernt wurden oder ob sie in oben genannten Konzentrationen den Präparaten hinzugefügt wurden. Die ausgeführten Eichungen werden später angeführt werden. Die Entfernung der Saponine aus den galenischen Produkten ist also bei der Isolierung der wirksamen Bestandteile ohne weiteres gestattet.

Bei Infusen und Maceraten schüttelte ich während $^1/_2$ Stunde 200 ccm des Präparates mit $^1/_4$ g Cholesterin „Merck" im Schüttelapparat und filtrierte den Cholesterin-Saponinkomplex ab. Durch dieses Verfahren werden die Produkte nicht absolut saponinfrei, denn sie hämolysieren noch gewaschene Blutkörperchen, jedoch genügend saponinfrei für meine Methode, denn das Cholesterin des Serums oder der Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit bindet die jetzt noch zurückgebliebenen Saponine.

Als ich Tinkturen untersuchte, löste ich das Cholesterin in Äther und fügte im Destillierapparat der Tinktur diese Cholesterinlösung zu.

Der Äther wurde abdestilliert. Dann wurde in Vacuo weiter destilliert unter allmählicher Zufuhr von Wasser, bis aller Alkohol übergegangen und das Cholesterin wieder im Destillierkolben auskristallisiert war, wobei alle anwesenden Saponine gebunden waren. Dann wurde filtriert unter sorgfältigem Nachspülen mit Wasser. Wie bekannt, wird das Gitalin durch Kochen mit Alkohol-Äther zerstört; die Tinkturen, hergestellt mittels absoluten Alkohols, enthalten kein Gitalin, so daß hier gezeigt werden konnte, daß die Entfernung der Saponine aus den Tinkturen prinzipiell auch gestattet ist. Andererseits kann man hieraus auch den Schluß ziehen, daß der Verlust, welcher eintritt, wenn mittels Spiritus fortior oder mittels Spiritus dilutis hergestellte Tinkturen so verarbeitet werden, dem Unwirksamwerden der Gitalinfraktion zugeschrieben werden muß. In dieser Weise erhielt ich meine Zahlen für den Gitalingehalt der genannten Tinkturen. Ich habe diese Tatsache auf andere noch zu besprechende Weisen kontrolliert.

Die Liquoren wurden mit Cholesterin $^1/_4$ Stunde in Vacuo im Destillierapparat erhitzt. Hierdurch wird der Alkohol entfernt und die Saponine binden sich (jetzt nur in wässeriger Lösung) quantitativ an das Cholesterin. Ein Wertverlust tritt nicht ein.

Bei der Untersuchung der Saponine aus Digitalis lanata zeigte sich der in der Cholesterinlösung in Chloroform auskristallisierte Digitalis-

körper für das isolierte Herz toxisch; das Herz zeigte typische Digitalissymptome. Hier hatte ich also einen saponinähnlichen Digitaliskörper; es war notwendig, dieses „Glykosid IV" aus Digitalis lanata auch quantitativ bei allen galenischen Lanataprodukten zu verfolgen. Die Geringheit der Menge dieses Glykosids in den galenischen Produkten machte eine Digitaliseichung auf mindestens drei Katzen unmöglich. Um dennoch von den anwesenden Mengen Glykosid IV einen Eindruck zu bekommen, bestimmte ich den Wert einer Bigitalin- (Rest-) Fraktion aus Infusum Digitalis lanata vor und nach der Entfernung dieser Digitalissaponine.

Es ergab sich ein Wertunterschied von 4,4%, also innerhalb der Fehlerbreite der Methodik.

Nachdem also die Saponine aus den Digitalisheilmitteln entfernt sind, wird Körpereiweiß zugesetzt, und zwar in der Form der schon beschriebenen Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. Ein einziges Kaninchen ist imstande, in der von de Haan[1] beschriebenen Weise eine Menge Bauchhöhlenflüssigkeit zu liefern, welche für alle ausgeführten Versuche zulangt. Im Gemisch: saponinfreies galenisches Produkt-Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit tritt jetzt eine Digitoxin-Eiweißbindung ein.

Meistens fügte ich etwa 30 Katzeneinheiten (1 Katzeneinheit ist die Menge Digitalis, welche bei intravenöser Infusion 1 kg lebende Katze tötet) 200 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit zu. Man würde hier etwa 90 ccm Serum brauchen.

Jetzt gibt es zwei Wege zur Bestimmung des Digitoxins, einen direkten und einen indirekten. Für die direkte Methode muß der Eiweiß-Digitoxinkomplex isoliert, das Digitoxin befreit und dann bestimmt werden, für die indirekte Methode muß man den Eiweiß-Digitoxinkomplex entfernen und bestimmen, wieviel der ursprünglichen Wirksamkeit verlorengegangen ist.

In den Zahlen, welche hier unten veröffentlicht werden, wurde immer die indirekte Bestimmung bevorzugt; die direkte Bestimmung wurde nur zur Kontrolle ausgeführt.

Bei der direkten Methode wird das Gemisch von saponinfreier galenischer Produkt und Bauchhöhlenflüssigkeit gesättigt mit Ammoniumsulfat und filtriert. Der Rückstand wird mit frischer gesättigter Ammoniumsulfatlösung in Wasser gewaschen und bei 60—90° C getrocknet. Im Soxhletapparat wird der pulverige Rückstand mit Alkohol extrahiert. Der alkoholische Extrakt wird eingedampft bis trocken, der Rest wieder in Alkohol gelöst, filtriert und wieder eingedampft bis auf

[1] J. de Haan, Nederlandsch tijdschr. v. geneesk. 1924, Bd. 68, S. 2110. Arch. f. exp. Zellforsch. 1927, Bd. 3, S. 219.

etwa 5 ccm. Während man schüttelt wird dieser Lösung tropfenweise 0,9% NaCl zugesetzt und die so erhaltene Flüssigkeit auf Katzen geeicht.

Sorgfältiges Nachwaschen der Filtrierpapiere und der Gefäße ist zur quantitativen Erhaltung notwendig.

Es wurden nun folgende Kontrollversuche angestellt:

1. Das oben erhaltene, mit $(NH_4)_2SO_4$ gesättigte Filtrat wird in Vacuo eingedampft bis zu trocken und mit absolutem Alkohol extrahiert; der Alkohol wird verjagt, der Rückstand wird gelöst in Ringer und in das isolierte Froschherz an die Straubkanüle geführt. Das Herz zeigt keine Digitalissymptome.

2. Das bis zu trocken eingedampfte oben genannte Filtrat wird mit Chloroform extrahiert. Dieser Chloroformextrakt wird am Froschherzen auf seine Digitalisbestandteile untersucht. Er enthält keine wirksamen Glykoside.

3. Das Filtrat wird nicht bis zu trocken eingedampft, sondern sofort während $^1/_2$ Stunde mit Chloroform geschüttelt. Im Chloroformextrakt ist auch jetzt wieder kein Digitaliskörper nachweisbar.

4. Perkolation des bei etwa 80° eingedampften Filtrates im Perkolator, mit Chloroform oder mit absolutem Alkohol liefert kein wirksames Perkolat: nur die Eiweißfraktion (Digitoxin) ist völlig wirksam zurückgehalten. Im Filtrat sind die übrigen Fraktionen unwirksam geworden.

5. 5 ccm Filtrat wird sehr schnell bei 100° C im Trockenschrank eingedampft. Das auskristallisierte Ammoniumsulfat wird mit absolutem Alkohol oder mit Chloroform extrahiert. Diese Extrakte werden eingedampft und ihre Rückstände in Ringer gelöst und in das Froschherz an die Straubkanüle geführt. Jetzt zeigen die Herzen Digitalissymptome. Sie stehen bald systolisch still. Der Stillstand ist reversibel.

Ich meine also, daß die sonstigen Digitaliskörper im mit Ammoniumsulfat gesättigten Filtrat einem schädlichen Einfluß ausgesetzt sind. Wirkt dieser schädliche Einfluß nur kurze Zeit auf sie ein, so sind die Glykoside eben noch pharmakologisch nachweisbar. Sobald aber ihre Isolierung einen längeren Zeitraum braucht, werden sie im schädlichen Milieu in unwirksame Substanzen zersetzt.

Bei der Anwendung irgendeiner Methode zur Isolierung von Digitalisglykosiden, wobei eine völlige Salzsättigung des Rohproduktes stattfindet, muß man damit rechnen, daß Gitalin und Bigitalin ihre pharmakologische Wirkung verlieren, wenn sie länger als höchstens 10 Minuten im gesättigten Milieu verbleiben müssen (siehe Isolierungsmethoden von Straub[1], Cloëtta[2] u. a.).

[1] Straub, a. a. O.

[2] Cloëtta, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1906, Bd. 54, S. 294.

Zur quantitativen Bestimmung kommt also nur der Digitaliskörper in Betracht, welcher sich an Körpereiweiße bindet und dann niederzuschlagen ist mit $(NH_4)_2SO_4$.

Es wird gezeigt werden, daß wir in dieser Weise eine Digitoxinwertbestimmung der galenischen Produkte ausgeführt haben. Zur Bestimmung des Digitoxins nach der indirekten Methode und zur Darstellung der sonstigen Fraktionen benutzte ich die von R. Willstätter[1] zur Isolierung von Enzymen aus tierischen und pflanzlichen Organen ausgearbeitete Methode. Willstätter beschreibt verschiedene Aluminiumhydroxyde, welche in verschiedener Weise aus Ammoniak und Aluminiumsulfat hergestellt werden. Die Aluminiumhydroxydgele haben ungleiche physikalische Eigenschaften, z. B. ein verschiedenes Adsorptionsvermögen den einzelnen Enzymen gegenüber. Für meinen Zweck eignet sich das von Willstätter Aluminiumhydroxyd B. genannte Produkt. Dieses wird in folgender Weise hergestellt:

Die siedende Lösung von 500 g $Al_2(SO_4)_3 + 18\ H_2O$ in $1^1/_2$ l Wasser tragen wir auf einmal und unter kräftigstem mechanischem Rühren in 5 l 20%igem Ammoniak ein, die im Emailletopf auf 60° erwärmt sind. Die Temperatur steigt bis 70°; man fährt mit dem Rühren noch $^1/_2$ Stunde fort und läßt die Temperatur auf 60° sinken. Dann wird die Sulfatlauge von frischem Ammoniak verdrängt, indem man sie dekantiert, noch dreimal ebenfalls unter dem Dekantieren mit Wasser nachwäscht und dann durch 4 l 20%igen Ammoniak ersetzt. Dieses Gemisch erwärmt man wieder im Emailletopf unter lebhaftem Rühren nur $^1/_2$ Stunde auf 60°.

Nach dem Erkalten gießt man die Suspension in gläserne Filtrierstützen und wäscht sie unter möglichst vollständigem Dekantieren häufig mit Wasser, nämlich bis sie sich nicht mehr klar absetzt, und auch dann noch zwei weitere Male; dies gelingt im ganzen zehn- bis zwölfmal.

Beim Säuregrad des Milieus, worin das Digitoxin sich an Eiweiß bindet, adsorbiert auch das Aluminiumhydroxyd B. das Eiweiß. 1 ccm des besunkenen Gels ist imstande, etwa 10—15 ccm Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit zu enteiweißen. Wenn Digitoxin an dieses Eiweiß gebunden ist, so ist auch das Glykosid vom Aluminiumhydroxyd B. adsorbiert. Dies läßt sich in zwei Weisen zeigen: Einer Digitoxinlösung 1:8000 in Bauchhöhlenflüssigkeit wird Aluminiumhydroxyd B. hinzugefügt. Jetzt wird 5 Minuten zentrifugiert (2500 Touren pro Minute), und die eiweißfreie klare Flüssigkeit am Froschherzen untersucht. Weder direkt noch nach Eindampfen in Vacuo und Extrahieren mit Alkohol ist Digitoxin nachweisbar: die oben stehende Flüssigkeit ist vollkommen

[1] Willstätter, Ber. d. dtsch. chem. Ges. 1923, Bd. 19, Nr. 1, S. 149; 1923, Bd. 158, Nr. 5, S. 1117; 1924, Bd. 215, Nr. 7, S. 1082; 1925, Nr. 10, S. 2448.

atoxisch. Das verwendete Aluminiumhydroxyd wird einige Male mit Wasser ausgewaschen und dann in der von Willstätter beschriebenen Weise eluiert. (Sogar Extraktion des Gels im Soxhlet mit Alkohol löst kein Digitoxin aus seiner Bindung; auch p_H-Änderungen bis 10,1 ergeben keine Spaltung der Adsorptionsbindung Aluminiumhydroxyd B.—Eiweiß-Glykosid.) 57 Teile Diammoniumphosphat 1%, 3 Teile Normalammonia und 40 Teile Wasser werden gemischt und über das Gel gebracht. Es wird kräftig geschüttelt und dann zentrifugiert. Die jetzt oben stehende eiweißreiche Flüssigkeit wird mit Chloroform geschüttelt oder sofort eingedampft und mit Alkohol extrahiert. In dem erhaltenen Extrakt ist jetzt das Digitoxin leicht nachweisbar. Aber sogar noch bei der sechsten Elution wird immer noch Digitoxin vom Gele abgegeben. Willstätter eluiert übrigens in seinen Versuchen zwölfmal. Diese Methode reicht also nicht aus, wenn man das Digitoxin quantitativ nachweisen will.

Kontrollversuche zeigten, daß Digitoxin in wässeriger und alkoholischer Lösung nicht von Aluminiumhydroxyd B. adsorbiert wird. Das Eiweiß spielt hier also eine unentbehrliche Rolle. Das Aluminiumgel wird in ein saponinfreies Infusum Digitalis purpurea gebracht. Nach kräftigem Schütteln wird abzentrifugiert und das Gel dreimal mit Wasser ausgewaschen. Dann wird in oben beschriebener Weise eluiert. Es zeigt sich, daß auch hier sich kein Digitalisglykosid an das Aluminiumhydroxyd bindet. Ganz anders ist es, wenn zuvor Eiweiße in dem galenischen Präparat gelöst sind. Willstätter bemerkt, daß einige Enzyme an sich nicht imstande sind, sich vom Aluminiumhydroxyd B. adsorbieren zu lassen. Sie brauchen dafür ein „Ko-Adsorbens", wofür das Serumeiweiß dienen kann. Genau ähnliche Verhältnisse liegen hier vor.

Wenn man dem Digitalispräparat Serumeiweiß zusetzt, und man zentrifugiert jetzt mit Aluminiumhydroxyd B., so ist die oben stehende eiweißfreie Flüssigkeit toxisch geblieben, während auch im ausgewaschenen Gel Digitalis durch Elution nachweisbar ist. Das Aluminumgel hat außer dem Eiweiß-Digitaliskomplex auch Chlorophyll und andere unwirksame Bestandteile mitgeschleppt. Eine zweite Behandlung des Rohproduktes mit Eiweiß und Aluminiumhydroxyd B. ergibt keinen weiteren Wertverlust desselben. Eine einmalige Entfernung der Eiweißfraktion ist also genügend. Dies stimmt mit meinen Angaben über die totale Bindung des anwesenden Glykosids an die Eiweiße überein.

Das Benehmen des reinen Digitoxinums Purissimus „Merck" ist auch hier analog mit dem unserer Eiweißfraktion.

Nach Willstätter kann man annehmen, daß überdies die vorkommenden Fermente ins galenische Digitalisprodukt bei unserer Bewirkung

mit abzentrifugiert worden sind. Durch eine einmalige Behandlung der galenischen Präparate mit Serum und Aluminiumhydroxyd B. kann man also aus ihnen entfernen: Pflanzenschleimstoffe, Chlorophyll, Fermente und die sich an Eiweiß bindende Digitalisglykosidfraktion.

Nach vielen orientierenden Versuchen wurde folgende Arbeitsweise als praktisch und zuverlässig befunden: Ein von Saponinen befreites galenisches Präparat, worin etwa 30 Katzeneinheiten (K. E.), erhält 200 ccm Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. Dann werden 20 ccm gut besunkenes Aluminiumhydroxyd B. hinzugefügt und geschüttelt. Jetzt wird 5 Minuten zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird abgesogen und der Bodenkörper wird dreimal mit Wasser ausgewaschen. Dieses Wasser wird der durch das Absaugen erhaltenen Flüssigkeit hinzugefügt, diese Lösung wird dreimal während $^1/_2$ Stunde im Schüttelapparat mit Chloroform extrahiert. Diese Chloroformfraktion wird im Destillierapparat in Vacuo in Wasser übergeführt. Die übriggebliebene ausgeschüttelte Restfraktion wird eingedampft und der Rückstand in Alkohol gelöst. In dieser Weise habe ich also eine Chloroformfraktion und eine Restfraktion dargestellt; die Eiweißfraktion wird mit dem Aluminiumhydroxyd B. entfernt. Die Folge der Eingriffe kann einigermaßen variiert und vereinfacht werden: ein galenisches Produkt wird sofort mit Chloroform geschüttelt. Die wässerige Restfraktion enthält jetzt noch die in Chloroform unlöslichen Saponine + Bigitalin. In das Chloroform gehen: Gitalin und Digitoxin. Mittels Eiweiße und Aluminiumhydroxyd B. sind diese Glykoside jetzt zu trennen. Man kontrolliere immer nach dem Zentrifugieren, ob alles Eiweiß entfernt worden ist.

In einer früheren Mitteilung (I) habe ich bewiesen, daß die Eiweißmenge aus 200 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit genügt, um mindestens 25 mg Digitoxin purpurea (d. h. etwa 64 K. E.) zu binden. Man kann also mit Bestimmtheit sagen, daß alles anwesende Glykosid, das sich überhaupt an Eiweiß binden kann, auch wirklich gebunden ist und später entfernt wird. Nach dieser Entfernung kann es noch eine technische Schwierigkeit geben bei der Chloroformausschüttung. Auf der Grenze zwischen Chloroform und Wasser im Scheidetrichter setzen sich schleimartige Massen ab, welche eine genaue Trennung erschweren.

Man kann jetzt eine Trennung hervorrufen, dadurch, daß man 1 Stunde zentrifugiert (2500 T pro Minute). Die schleimigen Substanzen gehen wieder in die oben stehende Flüssigkeit in Lösung. Diese in der Zentrifugenröhre oben stehende wässerige Phase wird abpipettiert und enthält dann quantitativ nur diejenigen Digitaliskörper, welche nicht in Chloroform löslich sind, und welche sich nicht an Eiweiße binden. Nie

darf dem galenischen Präparat zuerst Aluminiumhydroxyd zugesetzt werden und später die Eiweiße. Auch kann man nicht im voraus die Eiweiße von Aluminiumgel adsorbieren lassen und sie später ins galenische Produkt einführen.

Es läßt sich fragen, ob es erlaubt ist, den Wert einer Fraktion (Digitoxin) dadurch zu berechnen, daß man den Wert der übrigbleibenden Fraktionen (Gitalin + Bigitalin) vom Gesamtwert abzieht. Dazu ist folgendes zu bemerken: Modoka[1] stellte fest, daß bei Kombination von Strophanthin, Digitalin, Convallamarin, Digifolin und Digitalisinfus untereinander nie Potenzierung, sondern nur Addition stattfand. Soweit mir bekannt, ist eine entgegengesetzte Meinung nie verteidigt worden. Ich habe auch direkte Beweise: Ein Infusum Digitalis purpurea wurde untersucht (s. u.). Bei der direkten Methode fand ich, daß 33% der Wirksamkeit dem Digitoxin zuzuschreiben ist, bei der indirekten Methode, daß Gitalin zu 34,7%, Bigitalin zu 33,9% an der Totalwirksamkeit beteiligt war. Zusammen also 101,6%, also ein Fehler von 1,6%. Nach der indirekten Methode berechnet gibt es einen Digitoxingehalt von 31,4%, nach der direkten Methode von 33%, es besteht also ein Unterschied von etwa 5% (innerhalb der Fehlerbreite).

Die folgenden Gründe führen zu der Schlußfolgerung, daß meine mit Eiweiß entfernte Glykosidfraktion nur aus Digitoxin besteht:

I. Die Eiweißfraktion aus Digitalis purpurea bindet sich, ebenso wie Digitoxinum Purissimus „Merck", an Serumeiweiß.

II. Die folgenden Reaktionen fallen für die Eiweißfraktion positiv aus:

a) Reaktion von Grandeau auf Mercks „Digitalinum verum". Konzentriertes H_2SO_4 + Produkt → goldgelber Niederschlag auf Scheidungsfläche, welcher mit $KClO_3$ blut- bis purpurrot wird.

b) Reaktion von Kiliani-Keller. Produkt wird gelöst in 100 ccm Acid. acetic. glac. + 1 ccm einer Ferrisulfatlösung (5 g auf 100 ccm H_2O). Vorsichtig wird über diese Flüssigkeit eine Menge H_2SO_4 plus Ferrisulfat gebracht (100 ccm H_2SO_4 + 1 ccm der obigen Ferrisulfatlösung). Es zeigt sich auf der Scheidefläche ein indigoblauer Ring.

c) Reaktion von Brissemont Derrien. Produkt gelöst in Glyoxylsäure, diese Lösung langsam fließen lassen über konzentriertes H_2SO_4 → apfelgrüne Zone.

d) Reaktion von Lafon. Das Produkt lösen in: 1 Teil H_2SO_4 + 1 Teil absoluten Alkohols. Erhitzen mit einem Tropfen $FeCl_3$. Es tritt eine blaugrüne Farbe auf.

---

[1] Modoka, Okayama Igakkaï Zasshi 1929, Bd. 41, S. 2250–2264.

Diese Reaktionen sind alle nicht typisch für das Digitoxinum purpurea an sich.

III. Das sich an Eiweiß bindende Glykosid aus Digitalis purpurea ist leicht löslich in Chloroform und Alkohol. Es ist in Wasser unlöslich. Es ist also keinenfalls Bigitalinum purpurea, welches gut löslich ist in Wasser und unlöslich in Chloroform.

IV. Die Eiweißfraktion erträgt während 1 Stunde Erhitzung auf 100° C und ist verschiedenen schädlichen Einflüssen gewachsen, z. B. dem Kochen in Alkohol-Äthergemisch, worin Gitalin bald zugrunde geht.

V. Lösungen, welche Digitoxin enthalten, werden in ihrer Wirkung dem isolierten Froschherzen gegenüber durch Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit gehemmt. Solche Hemmungen sind nicht nachweisbar für Digitalispräparate (Maceratum Digitalis purpurea), welche nur aus Gitalin-Bigitalin bestehen (Straub). Meine Eiweißfraktion stimmt also in dieser Hinsicht quantitativ und nur mit Digitoxin überein.

VI. Pharmakologisch unterscheidet sich die Eiweißfraktion wesentlich von den bekannten Gitalin-Bigitalinfraktionen, weil sie beim Froschherzen immer einen irreversibelen Stillstand hervorruft, auch mit der kleinsten Dosis, welche überhaupt zum Herzstillstand führt. Dies ist eine typische Eigenschaft des Digitoxins.

VII. Das Digitoxin ist der kumulierende Bestandteil des Digitalis purpureae, und es ist eben diese Kumulationsfähigkeit, wodurch die deutlichsten Unterschiede zwischen meiner Eiweißfraktion und den zwei anderen Fraktionen hervortreten. In der folgenden Mitteilung werden die diesem Punkte zugrunde liegenden Versuche publiziert.

In allen bekannten chemischen, physikalisch-chemischen und pharmakologischen Reaktionen stimmt also meine Eiweißfraktion mit Digitoxinum purpureae überein. Ich werde denn auch weiter einfach von Digitoxin reden. Alle bekannten pharmakologischen und chemischen Eigenschaften des Gitalins stimmen genau mit meiner Chloroformfraktion überein: Löslich in Chloroform und in Wasser, nicht hitzebeständig, bei 30° schon zersetzt in Alkohol-Ätherlösung, reversibler Stillstand des Froschherzens, nicht kumulierend.

Meine Restfraktion enthält das leicht wasserlösliche, alkohollösliche, chloroformunlösliche Glykosid, das hitzebeständig ist auch in alkoholisch-ätherischer Lösung, in wässeriger Lösung nicht sehr haltbar ist, beim Froschherzen reversiblen Stillstand hervorruft, bei der Katze nicht kumuliert.

Wo ein spezieller Eingriff notwendig war, habe ich sie für jedes Heilmittel gesondert beschrieben; wobei weiter nichts erwähnt wird, folgte ich dem oben besprochenen Verfahren.

Die Zusammensetzungen der galenischen Präparate aus Pulvis foliorum Digitalis purpureae.

Wie später ausgeführt werden wird, sind die in den Präparaten enthaltenen Saponine nicht ohne Bedeutung. Ich habe daher diesen Saponingehalt zu bestimmen versucht. Dazu wurden die Verdünnungen der galenischen Präparate bestimmt, welche in isotonischer Lösung eben noch imstande waren, gewaschene Kaninchenblutkörperchen zu hämolysieren. Es ergab sich dabei, daß die Grenzverdünnung betrug:

für Infus (0,5 : 100)	1 : 3
„ Tinktur (1 : 10)	1 : 80
„ Macerat (0,5 : 100)	1 : 1,5
„ Liquor	1 : 20.

Wenn man diese Zahlen auf gleiche Giftdosen umrechnet, so ergibt sich, daß für gleiche Giftigkeit der Saponingehalt von Infus : Tinktur : Macerat : Liquor sich verhalten wie folgt: 1,5:2:1:1.

I. Die Zusammensetzung von Infusum Digitalis purpurea 0,5 : 100.

A. Das Infus wurde hergestellt aus dem Internationalen Standardpulver 1926. Die D.l. (Dosis letalis) pro Kilogramm Katze des Infuses = 1 K.E. = 17,94 ccm nach einer von van Esveld gleichzeitig gemachten Wertbestimmung. Aus 1 g Blattpulver bekommt man durch Infundieren also: $\frac{200}{17{,}94} = 11{,}15$ K.E.

Direkte Bestimmung des Digitoxingehaltes. 14 g Pulver (= 14 × 11,15 K.E. = 156,1 K.E.) werden infundiert und die erhaltenen 2800 ccm Infus mit 1040 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit gemischt und das ganze gesättigt mit $(NH_4)_2SO_4$, filtriert, Niederschlag gewaschen. Filtrierrest im Soxhlet extrahiert mit Alkohol. Sorgfältiges Nachspülen der Apparate mit Alkohol. Alkoholischer Extrakt beträgt 96 ccm. Zur Wertbestimmung wurde eine Verdünnung 1:10 in isotonischer NaCl-Lösung verwendet.

7 Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 17,3 ccm, 13 ccm, 12,5 ccm, 18 ccm, 23,8 ccm, 16,2 ccm, 17,7 ccm. Mittlerer Fehler: 14%. Für die Berechnung ausgeschlossen: Katze Nr. 2, 3 und 5. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze = 17,3 ccm. Stimmt überein mit 1,73 ccm des ursprünglichen Extraktes, worin also $\frac{96}{1{,}73}$ K.E. = 55,5 K.E., das ist $\frac{55{,}5}{1{,}561}\,\% = 35{,}5\,\%$. Der Digitoxingehalt ist also 35,5% der ganzen Wirksamkeit des Infuses aus dem internationalen Pulver.

B. Ein Infus, hergestellt aus „Starke Pulver B" von de Lind van Wijngaarden (1924).

a) Direkte Bestimmung des Digitoxingehaltes. Das Infus wurde hergestellt aus „Starke Pulver B" von de Lind van Wijngaarden 1924.

Wertbestimmung dieses Infuses. 4 Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 15,8 ccm, 16 ccm, 22,2 ccm, 16,7 ccm. Mittlerer Fehler: 8,9%. Ausgeschaltet: Katze Nr. 3. Durchschnittlicher Wert: 16,2 ccm. Aus 1 g Pulver bekommt man durch Infundieren also: $\frac{200}{16{,}2}$ K.E. = 12,3 K.E. (Von de Lind van Wijngaarden angegebener Wert [1924]: 12,4 K.E.)

11 g Pulver (11 × 12,3 K.E. = 135,3 K.E.) werden infundiert, das erhaltene Infus (2200 ccm) mit 600 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit gemischt und das ganze gesättigt mit $(NH_4)_2SO_4$. Filtriert usw. Filtrierrest im Soxhlet extrahiert mit Alkohol. Alkohol eingedampft und mit NaCl 0,9% verdünnt bis 720 ccm.

4 Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 17,2 ccm, 13,4 ccm, 18,6 ccm, 15,3 ccm. Mittlerer Fehler: 11%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 16,1 ccm. Anwesend waren also: $\frac{720}{16{,}1}$ K.E. Digitoxin $\doteq$ 44,7 K.E. oder $\frac{44{,}7}{1{,}353}\% = 33\%$.

b) Bestimmung des Gitalingehaltes. Es wurde ein Infus bereitet aus demselben Pulver.

1. Aus 5 g Blattpulver wurde die Gitalinfraktion isoliert und gelöst in 102 ccm NaCl 0,9%. Zur Wertbestimmung dieses Extraktes wurde verwendet eine Verdünnung 102:360 NaCl isotonisch.

7 Katzen; D.l. bzw. 15,7 ccm, 23,4 ccm, 17,5 ccm, 14 ccm, 25 ccm, 21,9 ccm, 22,4 ccm. Mittlerer Fehler: 19%. Durchschnittlicher Wert: 1 K.E. = 19,6 ccm. Anwesend also: $\frac{360}{19{,}6}$ K.E. = 18,3 K.E. Der Gitalingehalt des Infuses beträgt also: $\frac{18{,}3 \cdot 100}{5 \cdot 12{,}3}\% = 29{,}8\%$.

2. Diese Wertbestimmung wurde wiederholt mit einer Gitalinfraktion aus 7 g Pulver, gelöst in 80 ccm NaCl isotonisch. Verwendet wurde eine Verdünnung 1:10.

3 Katzen; D.l. bzw.: 22,7 ccm, 23,1 ccm, 24,4 ccm. Mittlerer Fehler: 8,5%. Durchschnittlicher Wert: 23,4 ccm = 2,34 ccm der ursprünglichen Gitalinlösung, worin also $\frac{80}{2{,}34}$ K.E. = 34,1 K.E., das ist $\frac{34{,}1 \cdot 100}{7 \cdot 12{,}3} = 39{,}6\%$.

Das Mittel der beiden Bestimmungen ergibt als Gitalingehalt des Infuses: $\frac{29{,}8 + 39{,}6}{2}\% = \mathbf{34{,}7}\%$.

c) Bestimmung des Bigitalingehaltes. Bei der ersten Bestimmung lieferte die Trennung im Scheidetrichter große Schwierigkeiten wegen der schon beschriebenen schleimartigen Massen. Diese schleimigen Massen habe ich entfernt und dafür einen Verlust von 10% angenommen. Die zweite Bestimmung habe ich ausgeführt, nachdem ich in der Zentrifuge solange zentrifugierte, bis eine scharfe Scheidungsfläche zwischen den Schichten bestand, und also ohne Verlust gearbeitet wurde. In Vacuo wird die ganze wässerige Flüssigkeit eingedampft bis trocken und der Rückstand in der Hitze (Rückflußkühler) mit Alkohol extrahiert.

1. Aus 5 g „Starke Pulver B" wird die Bigitalinfraktion gelöst in 280 ccm NaCl 0,9%.

3 Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 16,7 ccm, 15 ccm, 16,5 ccm. Mittlerer Fehler: 4,3%. Durchschnittlicher Wert: 1 K.E. = 16,1 ccm.

Also in 5 g Pulver: $\frac{11}{10} \cdot \frac{280}{16{,}1}$ K.E. = 19,1 K.E. oder $\frac{19{,}1 \cdot 100}{5 \cdot 12{,}3}\% = \mathbf{31}\%$.

2. Aus 7 g „Starke Pulver B" wird die Bigitalinfraktion gelöst in 138 ccm NaCl 0,9%. Verwendet wird eine Verdünnung 138:460.

3 Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 15,1 ccm, 15 ccm, 13,3 ccm. Mittlerer Fehler: 5,3%. Durchschnittlicher Wert: 1 K.E. = 14,5 ccm.

Also in 7g Pulver: $\frac{460}{14{,}5}$ K.E. = 31,7 K.E. oder $\frac{31{,}7 \cdot 100}{7 \cdot 12{,}3}\% = \mathbf{36{,}8}\%$.

Der Bigitalingehalt des Infuses ist: $\frac{31 + 36{,}8}{2}\% = \mathbf{33{,}9}\%$. In dem „Starke Pulver B" finden wir also 33,9% Bigitalin und 34,7% Gitalin, es bleiben dann für das Digitoxin 31,4% übrig. Die direkte Digitoxinbestimmung lieferte einen Gehalt von 33%. In dem Standardpulver 1926 fand ich auf direktem Wege 35,5%, d. h. etwa einen gleich großen Teil.

Diese zwei Digitalispulvermuster haben also, was das Digitoxin betrifft, etwa dieselbe Zusammensetzung. Praktisch läßt sich also sagen, daß im Infus (und also im Purpureablatt) von jeder Fraktion eine etwa gleich große Menge anwesend ist. Das stimmt mit den von Straub (s. oben) auf anderem Wege erhaltenen Resultaten überein.

Ausgedrückt in K.E. finden sich im Infus aus 1 g Blattpulver (total 12,3 K.E.):

an Digitoxin: $12{,}3 \cdot \frac{31{,}4}{100} = 3{,}8$ K.E.

„ Gitalin : $12{,}3 \cdot \frac{34{,}8}{100} = 4{,}3$ K.E.

„ Bigitalin : $12{,}3 \cdot \frac{33{,}9}{100} = 4{,}2$ K.E.

II. Die Zusammensetzung der Tinkturen, hergestellt mittels Spiritus dilutus, Spiritus fortior und Alkohol absolutus aus Blattpulver des Digitalis purpurea.

Je nachdem man mit höher konzentriertem Alkohol extrahiert, enthält die entstehende Tinktur weniger Wirksamkeit.

a) Wertbestimmung von Tinctura purpurea (Standard. Intern. 1:10 mit Spiritus dilutus). Verdünnung 1:20. Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 18,8 ccm, 18 ccm, 17,8 ccm. Mittlerer Fehler: 2,2%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 18,2 ccm.

In 10 g Tinktur (S. G. Spir. dil. = 0,89), also: $\frac{10 \cdot 20}{18{,}2 \cdot 0{,}89}$ K.E. = 12,35 K.E.

Mittels Infusion wird aus 1 g Digitalis Blattpulver (Intern. Stand.) extrahiert: 11,15 K.E.

Spiritus dilutus extrahiert also in diesem Falle[1] mehr Wirksamkeit aus dem Blattpulver als Infundieren, und zwar $\frac{12{,}35}{0{,}1115}\,\% = 110{,}8\,\%$.

b) Wertbestimmung von Tinctura purpurea (Stand. Intern. 1:10 mit Spiritus fortior [S. G. = 0,81]). 1 K.E. = 1,507 ccm Tinktur (van Esveld). In 10 g Tinktur also $\frac{10}{0{,}81 \cdot 0{,}1507}$ K.E. = 8,2 K.E., das ist: $\frac{8{,}2}{0{,}1115}\,\% = 73.4\,\%$ der Wirksamkeit, welche man mittels Infusion aus 1 g Blattpulver bekommt.

c) Wertbestimmung von Tinctura Digitalis purpurea („Starke Pulver B" 1:10 mit Alkohol absolutus [S. G. Alk. absol.: 0,79]). Zur Wertbestimmung wurde verwendet eine Verdünnung 1:15 der Tinktur. Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 18,6 ccm, 20,4 ccm, 21,6 ccm. Mittlerer Fehler: 5,1%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 20,2 ccm.

In 10 g Tinktur also: $\frac{10 \cdot 15}{20{,}2 \cdot 0{,}79}$ K.E. = 9,4 K.E. Mittels Infusion wird aus 1 g Digitalisblattpulver „Starke Pulver B" extrahiert: 12,3 K.E.

---

[1] Vgl. de Lind v. Wijngaarden, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1926, Bd. 114, S. 21. Dissertation Utrecht 1925.

Die Tinktur hat also: $\frac{9{,}4}{0{,}123}\% = 76{,}4\%$ dieser Wirksamkeit aus dem Pulver entfernt.

Bei der Bestimmung der Zusammensetzung der Tinkturen ergab sich bald, daß in der Tinktur mit absolutem Alkohol nur eine Spur Gitalin nachzuweisen war. Dieser qualitative pharmakologische Gitalinnachweis geschieht folgendermaßen: Die Tinktur wird mir der fünffachen Menge Wasser gemischt, dann mit Chloroform geschüttelt; das Chloroform wird abgetrennt, und unter allmählichem Zusatz von Wasser in Vacuo wird das Chloroform und der Alkohol verjagt. Die erhaltene wässerige Lösung wird jetzt wieder mit Chloroform geschüttelt und von neuem der jetzt nur Gitalin und Digitoxin enthaltende Chloroformextrakt in Vacuo gegen Wasser wie oben eingedampft. Jetzt werden übermäßig Eiweiße und Aluminiumhydroxyd B hinzugefügt und die oben stehende Flüssigkeit auf Gitalinwirkung auf das Froschherz untersucht.

Dazu kann man die wässerige Lösung sofort benutzen oder dieselbe durch nochmalige Chloroformausschüttelung konzentrieren. Es zeigt sich nun, daß aus einer mittels absoluten Alkohols hergestellten Tinktur höchstens eine Spur Gitalin herauszubekommen ist: aus 60 ccm Tinktur bekommt man noch nicht genügendes Gitalin, um ein Herz an der Straubkanüle zum Stillstand zu bringen. Die Tinkturen mit Spiritus fortior enthalten etwas mehr, die mit Spiritus dilutus bedeutend mehr Gitalin (s. unten). Wenn man jedoch eine solche gitalinhaltige Tinktur zwecks Bindung der Saponine mit ätherischer Cholesterinlösung in Vacuo eindampft, so findet man nach dieser Behandlung gar kein Gitalin mehr. Das Gitalin verträgt diese Behandlung nicht, was übrigens auch schon bekannt war. Da die Mengen Gitalin außerordentlich klein sind und auch nur unter bedeutendem Verlust isoliert werden können, habe ich den Wertverlust, welchen die Tinkturen durch Eindampfen in Vacuo mit Äther zeigen, als Gitalin betrachtet. Voraussetzung dabei ist, daß die Entziehung der Saponine an sich keinen Wertverlust verursacht. Das kann man beweisen mit Tinktur hergestellt mit absolutem Alkohol (gitalinfrei): 40 ccm einer solchen Tinktur (D.l. pro Kilogramm Katze in der Verdünnung 1:15 = 20,2 ccm) wird gemischt mit ätherischer Cholesterinlösung, dann unter tropfenweiser Hinzufügung von Wasser in Vacuo eingedampft, bis Alkohol und Äther entfernt sind. Dann wird soviel Alkohol und Wasser hinzugefügt, bis 400 ccm Flüssigkeit erhalten ist mit einem Alkoholgehalt von 7%. Durch Zusatz von 3,6 g NaCl wird die Flüssigkeit isotonisch gemacht und zur Wertbestimmung verwendet.

d) Wertbestimmung der saponinfreien Tinctura Digitalis purpurea („Starke Pulver B" 1:10 mit Alkohol absolutus, Verdünnung 1:10). Fünf Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 16,6 ccm, 10,7 ccm, 13,2 ccm, 12,9 ccm, 15 ccm. Mittlerer Fehler: 12,4%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 13,7 ccm, d. h. $1{,}5 \times 13{,}7$ ccm $= 20{,}55$ ccm einer Verdünnung 1:15. Durch diese Behandlung hat also ein Verlust von 1,7% stattgefunden, d. h. innerhalb der Fehlergrenze. Daß die Saponine an sich keinen Einfluß auf die tödliche Dosis ausüben, kann man auch durch Zusatz von reinen Digitsaponinen beweisen. In einer späteren Mitteilung wird darüber ausführlich berichtet.

e) Wertbestimmung des Gitalingehaltes von Tinctura Digitalis purpurea („Starke Pulver B") mit Spiritus fortior 1:10. Die Tinktur mit Spiritus fortior entfernt 73,4% derjenigen Wirksamkeit aus den Blättern („Starke Pulver B"), welche mittels Infusion aus denselben zu extrahieren ist. Der Gitalingehalt dieser Tinktur ist ganz gering. Die Menge ist sicher zu gering für eine Wertbestimmung an Katzen. Ich habe deshalb die in der oben besprochenen Weise isolierte Gitalinfraktion an isolierten Froschherzen (Rana esculenta) geeicht. Wenn eine K.E. Gitalin in 46 ccm Ringerscher Flüssigkeit gelöst wird, steht ein isoliertes Froschherz innerhalb 5 Minuten mit dieser Lösung still. Das traf für alle untersuchten Herzen zu. Jetzt wurde aus 10 K.E. Tinktur so quantitativ wie möglich die Gitalinfraktion isoliert und in 10 ccm Ringerlösung aufgenommen. Eine zweifache Verdünnung dieser Gitalinlösung hat dem isolierten Froschherzen gegenüber dieselbe Wirkungsintensität als 1 K.E. gelöst in 46 ccm Ringer. Es war also an Gitalin anwesend etwa $\frac{10 \cdot 2}{46}$ K.E. $= 0{,}435$ K.E., das ist $0{,}435 \cdot \frac{100}{10}\% = 4{,}35\%$ der Totalwirksamkeit.

f) Wertbestimmung des Bigitalingehaltes von Tinctura Digitalis purpurea (Stand. Intern. 1:10 mit Spiritus fortior). D.l. pro Kilogramm Katze (van Esveld): 1,507 ccm.

1. Ausgegangen von 123 ccm Tinktur, also von $\frac{123}{1{,}507}$ K.E. $= 81{,}6$ K.E.

Die Bigitalinfraktion wird in 670 ccm NaCl 0,9% gelöst.

Vier Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 13,7 ccm, 10 ccm, 13 ccm, 12,9 ccm. Mittlerer Fehler: 11,2%. Ausgeschaltet: Katze Nr. 2. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 13,2 ccm. Der Bigitalingehalt war also: $\frac{670}{13{,}2}$ K.E. $= 50{,}7$ K.E., das ist $\frac{50{,}7}{0{,}816}\% = 62{,}1\%$.

2. Ausgegangen von 82 ccm Tinktur, also von $\frac{82}{1{,}507}$ K.E. = 54,4 K.E.

Die Bigitalinfraktion wird in 1170 ccm NaCl 0,9% gelöst.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 34 ccm, 39,2 ccm, 29,5 ccm. Mittlerer Fehler: 9,6%. Durchschnittlicher Wert: 34,2 ccm. Also anwesend $\frac{1170}{34{,}2}$ K.E. = 34,2 K.E., das ist also $\frac{34{,}2}{0{,}544}$ % = 62,9%.

Beide Bestimmungen geben einen durchschnittlichen Wert von: $\frac{62{,}1 + 62{,}9}{2} = 62{,}5\%$.

Stelle ich den Gitalingehalt wie bei der Tinktur aus „Starke Pulver B" auf 4,35%, so ergibt sich ein Digitoxingehalt von: 100% — (62,5% + 4,35%) = 33,15%.

Die Zusammensetzung einer Tinctura Digitalis purpurea 1/10 mit Spiritus fortior, hergestellt aus „Starke Pulver B", welcher 73,4% der totalen Wirksamkeit aus den Blättern extrahiert, wäre also:

Gehalt an Digitoxin: $12{,}3 \cdot \frac{73{,}4}{100} \cdot \frac{33{,}15}{100}$ K.E. = 3,0 K.E.

„ „ Gitalin : $12{,}3 \cdot \frac{73{,}4}{100} \cdot \frac{4{,}35}{100}$ K.E. = 0,4 K.E.

„ „ Bigitalin : $12{,}3 \cdot \frac{73{,}4}{100} \cdot \frac{62{,}5}{100}$ K.E. = 5,6 K.E.

Wenn man den gitalinfreien Tinkturen in der beschriebenen Weise Saponin entzieht, bringt dies keinen Verlust mit sich. Deshalb darf man die bei der Untersuchung von gitalinhaltigen Tinkturen auftretenden Verluste als durch die Zersetzung des Gitalins bedingt auffassen. Daraus ergibt sich die folgende

g) Wertbestimmung der Gitalinfraktion aus Tinctura Digitalis purpurea (Stand. Intern. 1/10 [Spiritus dilutus]). D.l. des ursprünglichen Produktes (1:20) = 18,2 ccm (s. oben).

1. Nach Saponinentfernung mittels Kochen in Vacuo mit Äther und Cholesterin usw. wird die ursprüngliche Flüssigkeit 15 mal verdünnt unter Hinzufügung von Alkohol in gleicher Konzentration wie die der Rohproduktverdünnung (1:20).

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 16,7 ccm, 16,5 ccm, 15,7 ccm. Mittlerer Fehler: 2,4%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 16,3 ccm. Das wäre bei einer Verdünnung 1:20: $16{,}3 \cdot \frac{20}{15} = 21{,}7$ ccm. Der Wertverlust ist also 21,7 ccm — 18,2 ccm = 3,5 ccm oder $3{,}5 \cdot \frac{100}{18{,}2}$ % = 19,2%.

2. Eine zweite Wertbestimmung der Gitalinfraktion, aus Tinctura purpurea 1/10 mit Spiritus dilutus hergestellt, wurde ausgeführt. Jetzt wurde nur in Vacuo gekocht mit Äther, ohne Cholesterin. Die Saponine blieben also in der Lösung. Verdünnung des ursprünglichen galenischen Produktes: 1:15.

Vier Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 14,3 ccm, 9,2 ccm, 16,9 ccm, 17 ccm. Ausgeschaltet Katze Nr. 2, weil sie einen Wert angibt, welcher etwa zweimal höher ist als der festgestellte Wert der 30-ccm-Tinktur, welche ich bearbeitete. Mittlerer Fehler: 7,2%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze (Katzen Nr. 1, 3 und 4): 16,1 ccm. Das wäre bei einer Verdünnung 1:20: $16{,}1 \cdot \frac{20}{15} = 21{,}5$ ccm. Der Wertverlust ist also 21,5 ccm — 18,2 ccm = 3,3 ccm oder $3{,}3 \cdot \frac{100}{18{,}2}\% = 18{,}1\%$.

Die zwei Wertbestimmungen ergeben einen durchschnittlichen Gitalingehalt in Tinctura Digitalis purpurea 1:10 (Spir. dil.) von: $\frac{18{,}1 + 19{,}2}{2} = 18{,}6\%$.

Die Tinktur extrahiert aus dem Blattpulver 12,35 K.E. An Gitalin geht also in die Tinktur über: $\frac{18{,}6}{100} \cdot 12{,}35$ K.E. = **2,3 K.E.**

Für die Digitoxin- und Bigitalinfraktionen in der Tinktur (Spir. dil.) bleibt also 10,05 K.E. übrig.

Im Infusum Digitalis Stand. bestimmte ich auf direktem Wege (s. oben) einen Digitoxingehalt von 35,5% oder aus 1 g Blattpulver 3,96 K.E. Digitoxin.

Nach dieser Behandlung ist mittels Alkoholextraktion kein Digitoxin mehr aus den Blättern zu extrahieren. Es ist nicht annehmbar, daß Digitoxin bei der Infusion zersetzt worden ist. Die Tinktur kann also maximal 3,96 K.E. Digitoxin extrahiert haben, was auch geschehen wird, weil Digitoxin gut in Alkohol löslich ist. An Digitoxin + Bigitalin sind 10,05 K.E. da, wenn davon 3,96 K.E. Digitoxin sind, bleibt für das Bigitalin 6,1 K.E. übrig. Daraus sieht man, daß in Tinctura Digitalis mit Spiritus dilutus noch mehr Bigitalin übergeht als in Tinctura mit Spiritus fortior. Zum Vergleich der verschiedenen galenischen Präparate habe ich all diese Werte umgerechnet für eine Tinktur aus „Starke Pulver B", unter der Voraussetzung, daß auch diese 1,108mal soviel Wirksamkeit enthalten würde als das Infus aus diesem Blattmuster. Wir berechnen dann: Zusammensetzung einer Tinctura Digitalis purpurea „Starke Pulver B", Spiritus dilutus 1:10.

Extrahiert aus 1 g Blattpulver: $\frac{110,8}{100} \cdot 12,3$ K.E. = 13,6 K.E.

Gitalingehalt: $13,6 \cdot \frac{18,6}{100}$ K.E. = 2,5 K.E.

Digitoxingehalt (wie im Infus) = 3,8 K.E.

Bigitalingehalt (berechnet) = 7,3 K.E.

Tinctura Digitalis purpurea (1:10). Absol. Alkohol.

Ich hatte von dieser Tinktur nur eine kleine Menge. Nach Entfernung der Saponine wurde das Digitoxin mittels Serum und Aluminiumhydroxyd B. entfernt. Die übrigbleibende Wirksamkeit (Bigitalin) habe ich am isolierten Froschherzen mit der ursprünglichen Tinktur verglichen. Es ergab sich, daß die Bigitalinwirksamkeit etwa $^5/_8$ der Totalwirksamkeit betrug, und da nur eine Spur Gitalin anwesend war, mußte der Digitoxingehalt etwa $^3/_8$, d. h. etwa 37,5%, der Totalglykosidmenge betragen.

III. Die Zusammensetzung des Maceratums Digitalis purpurea 0,5/100.

Dieses galenische Produkt wurde hergestellt, indem ich 0,5 g Blattpulver („Starke Pulver B") während 6 Stunden im Schüttelapparat mit 100 ccm Wasser schüttelte. Isotonisch gemacht mit NaCl, unverdünnt geeicht.

Sechs Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 28,2 ccm, 16,8 ccm, 20,7 ccm, 28,2 ccm, 25,4 ccm. Mittlerer Fehler: 14,5%. Ausgeschaltet Katze Nr. 2. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 23,8 ccm.

In 200 ccm Maceratum gibt es also $\frac{200}{23,8} = 8,4$ K.E.

Zuerst habe ich versucht, ob Digitoxin qualitativ nachweisbar war. Es zeigte sich, daß weder durch die direkte Methode noch durch Eluierung der Aluminiumhydroxydeiweiß-Digitoxinbindung ein Digitaliskörper isolierbar war. Daraus ergibt sich, daß im Maceratum kein Digitoxin anwesend ist. Das Maceratum wurde dreimal mit Chloroform geschüttelt. In der Zentrifuge und im Scheidetrichter wurde die Chloroformfraktion (= Gitalin) von der Restfraktion getrennt.

a) Wertbestimmung der Gitalinfraktion. Die Gitalinfraktion aus 1564 ccm Maceratum (= 65,7 K.E.) wird gelöst in 450 ccm NaCl 0,9%. Unverdünnt zur Wertbestimmung verwendet.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 12,3 ccm, 12,9 ccm, 11,8 ccm. Mittlerer Fehler: 3%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm

Katze: 12,3 ccm. Gefunden also: $\frac{450}{12,3}$ K.E. = 36,6 K.E. Gitalin oder $\frac{36,6}{0,657}\% = 55,7\%$.

b) Wertbestimmung der Bigitalinfraktion. Die Bigitalinfraktion wird gelöst in 700 ccm 0,9% NaCl. Unverdünnt zur Wertbestimmung verwendet.

Vier Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 33,3 ccm, 56,1 ccm, 28,5 ccm, 29,1 ccm. Ausgeschaltet Katze Nr. 2. Mittlerer Fehler: 6,6%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 30,3 ccm. Gefunden: $\frac{700}{30,3}$ K.E. = 23,1 K.E. Bigitalin, d. h. $\frac{23,1}{0,657}\% = 35,2\%$.

Weil diese Bestimmung nicht den Anforderungen von de Lind van Wijngaarden entspricht (zu große Verdünnung), ist sie nicht sehr zuverlässig. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß man eine genauere Zahl bekommt, wenn man den gefundenen Gitalingehalt (55,7%) vom Total abzieht und die übrigen 44,3% als Bigitalin betrachtet.

Die Zusammensetzung des Maceratums Digitalis purpureae ist also:

Digitoxinfraktion: 0 %
Gitalinfraktion : 55,7 %
Bigitalinfraktion : 44,3 %.

In absoluten Zahlen finden wir also in einem Macerat 0,5:100 aus 1 g Digitalis Blattpulver (total 8,4 K.E.) an:

Digitoxin: 0 K.E.
Gitalin: 4,7 K.E.
Bigitalin: 3,7 K.E.

IV. Die Zusammensetzung der Liquor Digitalis purpurea. Ed. 5 Ned. Pharm. (Digisol.).

Standardisiert durch das Rijks Instituut voor Pharmaco-therapeutisch Onderzoek. D.l. pro Kilogramm Katze: 2,06 ccm.

a) Wertbestimmung der Gitalinfraktion. Ausgegangen von 100 ccm Liquor, also von $\frac{100}{2,06}$ K.E. = 48,5 K.E. Gitalinfraktion gelöst in 440 ccm NaCl 0,9%.

Vier Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 12,6 ccm, 11,5 ccm, 14,3 ccm, 12,1 ccm. Mittlerer Fehler: 6,5%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 12,6 ccm. An Gitalin also anwesend: $\frac{440}{12,6}$ K.E. = 35 K.E., das ist $35 \cdot \frac{100}{48,5}\% = 72,2\%$.

b) Wertbestimmung der Bigitalinfraktion. Ausgegangen von 100 ccm Liquor, also von 48,5 K.E. Bigitalinfraktion gelöst in 232,5 ccm NaCl 0,9%.

Eine Katze; D.l. pro Kilogramm Katze: 50 ccm. Diese Wertbestimmung ergibt also: $\frac{232,5}{50} = 4,65$ K.E., anwesend in der Bigitalinfraktion. Mir blieb zu wenig Bigitalinlösung übrig, um eine vollständige Bestimmung zu machen. Den folgenden drei Katzen habe ich erst die Hälfte der tödlichen Dosis Strophanthin 1:200000 intravenös einverleibt. (D.l. des Strophanthins: 22,54 ccm pro Kilogramm Katze [van Esveld].) Unmittelbar danach wurde die Bigitalinlösung eingeströmt.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze: 32,5 ccm, 32,4 ccm, 27,8 ccm. Mittlerer Fehler: 9,7%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 31 ccm. An Bigitalin also anwesend: $\frac{232,5}{31} = 7,5$ K.E., das ist: $7,5 \cdot \frac{100}{48,5}\% = 15,4\%$.

Die Zusammensetzung des Liquor Digitalis purpurea (Digisol.) ist also:

Gehalt an Digitoxin: 12,4% (berechnet)
„ „ Gitalin: 72,2% (gute Bestimmung)
„ „ Bigitalin: 15,4% (nicht ganz zuverlässig).

Aus einer kleinen Menge Liquor wurde mittels Bauchhöhlenflüssigkeit und $(NH_4)_2SO_4$ das Digitoxin entfernt und am isolierten Froschherzen untersucht. Es ergab sich dabei ein Digitoxingehalt von etwa 18%, was also mit den oben angeführten Zahlen befriedigend übereinstimmt.

V. Die Zusammensetzung der galenischen Präparate aus Folia Digitalis lanata.

Die Digitalis lanata Ehrl. hat in den letzten Jahren die Aufmerksamkeit auf sich gezogen wegen seines hohen Gehaltes an Digitalisglykosiden. Gezüchtet in Österreich, wird sie jetzt wohl über die ganze Welt verhandelt. Die niederländische Pharmakopoea läßt nur den Gebrauch von Digitalis purpurea zu.

In den „Mededeelingen van het Rijksinstituut voor Pharmaco-therapeutisch onderzoek, Nr. 20“ wird über den bisweilen viel zu hohen Wert der zu untersuchenden Digitalispräparate berichtet, und dabei ergab sich, daß oft Produkte aus Digitalis lanata angeboten worden waren. Während ich, im Auftrag dieses Institutes, mit dieser Untersuchung bemüht war,

isolierten Mannich, Mohs und Mauss[1] aus dem Blattpulver vier Glykoside auf chemischem Wege.

Das von mir schon benannte Lanogen zeigt sich identisch mit ihrem Lanadigin. In dieser Mitteilung ersetze ich den in einer vorläufigen Mitteilung[2] benutzten Namen Lanogen durch Lanadigin.

Das Lanadigin bindet sich an Körpereiweiße wie das Digitoxinum purpureae. Es ist alkohol- und chloroformlöslich, unlöslich in Wasser und es verträgt Erhitzung auf 100° C. Seine Wirkung auf das isolierte Froschherz ist jedoch reversibel, und Kumulationsversuche auf Katzen wiesen aus, daß das Lanadigin nicht im Körper kumuliert (s. Mitteilung IV). Hierdurch kann man das Glykosid nicht Lanata-Digitoxin nennen.

Das Lanataglykosid II von Mannich c. s. ist identisch mit meiner Chloroformfraktion, es ist unlöslich in Alkohol, schwer löslich in Wasser, und ist nicht hitzebeständig. Nach $^1/_2$stündiger Erwärmung auf 90° haben sowohl Gitalin (aus Purpurea) wie Lanataglykosid II $^2/_3$ ihrer Wirksamkeit verloren.

Dennoch würde der Name Lanata-Gitalin irreführend sein, denn es ist eben dieses Glykosid, welches für Digitalis lanata das kumulierende Prinzip bildet (Mitteilung IV). Seine Wirkung ist aufs Froschherz irreversibel. Wo Mannich c. s. hier keinen Namen einführt, kann ich hier an meiner alten Nomenklatur Lanatoxin festhalten.

Meine Restfraktion (Lanatalin) kumuliert nicht, hat eine reversible Wirkung, ist leicht löslich in Wasser und Alkohol und verträgt Erhitzung auf 100° C. Es wird identisch sein mit Glykosid III von Mannich, Mohs und Mauss.

Zum Schluß isolierten die genannten Verfasser ein viertes Glykosid, das keine für Digitalis typische Farbreaktionen gab, aber dennoch eine reversible digitalisartige Wirkung besaß. Es ist meine saponinartige Fraktion IV, welche sich bindet an Cholesterin, löslich ist in Wasser und Alkohol, unlöslich in Chloroform. Ihre Lösung schäumt kräftig und hämolysiert in ziemlich hohen Verdünnungen. Es ist also ein saponinartiger Körper mit Digitaliswirkung, der Gruppe von Digitonin und Helleborein angehörend. Es wäre nun sehr wichtig, zu wissen, ob es außer diesem vierten Glykosid noch echte, nicht auf das Herz wirkende Saponine gibt. Weder Smith[3], Mannich usw.[4] noch Perrot, Bourcet

---

[1] Mannich, Mohs und Mauss, Pharm. Zentralbl. 1930, Bd. 71, S. 615.
[2] Mededeel. v. h. Rijks-Inst. v. pharmaco-therap. onderzoek Nr. 20.
[3] Smith, Journ. of the chem. soc. (London) 1930, Bd. 133, S. 508.
[4] Mannich usw. s. o.

und Raymond Hamet[1] reden von anwesenden Digitsaponinen, obwohl sie vier statt drei digitalisartig wirkende Körper aus dem Blatte der Digitalis lanata isolierten.

Es ist mir nicht gelungen, die Saponinfraktion in eine herzwirksame (viertes Glykosid) und eine herzunwirksame zu trennen. Ich halte es vorläufig für wahrscheinlich, daß es neben dem vierten Glykosid keine anderen Saponine in den Lanatapräparaten gibt. Ich habe auf Grund dieser Auffassung das Glykosid IV durch vergleichende Hämolyseversuche bestimmt, nachdem ich an dem Infusum lanatae eine Wertbestimmung ausgeführt hatte, die die Möglichkeit schuf, die Hämolyseeinheiten in Katzeneinheiten umzurechnen.

VI. Zusammensetzung des Infusums Digitalis lanatae I 0,1/100.

(D.l. pro Kilogramm Katze: 16,66 ccm [van Esveld].) Durch Extraktion mittels Infusion wird also aus 1 g Blattpulver extrahiert: $\frac{1000}{16{,}66}$ K.E. = 60 K.E.

a) Direkte Wertbestimmung des Lanadigingehaltes. Ausgegangen von 911,3 ccm Infusum, also von: $\frac{911{,}3}{16{,}66}$ K.E. = 54,7 K.E. Die Lanadiginfraktion wurde gelöst in 33 ccm absolutem Alkohol. Zur Wertbestimmung wurde eine Verdünnung dieser Lösung von 1:10 verwendet.

Sechs Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 19,6 ccm, 15,1 ccm, 14,2 ccm, 21 ccm, 14,8 ccm, 18,6 ccm. Mittlerer Fehler: 14,5%. Ausgeschlossen Katze Nr. 4. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 16,5 ccm. Also anwesend: $\frac{33 \cdot 10}{16{,}5}$ K.E. = 20 K.E., das ist: $20 \cdot \frac{100}{54{,}7}$ % = 36,6%.

b) Indirekte Wertbestimmung des Lanadigingehaltes. Ausgegangen von Infusum Digitalis lanata II. D.l. pro Kilogramm Katze: 20,17 ccm (van Esveld). Durch Extraktion mittels Infusion wird also aus 1 g Blattpulver extrahiert: $\frac{1000}{20{,}17}$ K.E. = 49,6 K.E. Anwesend war 600 ccm Infus, das sind also: $\frac{600}{20{,}17}$ K.E. = 29,7 K.E. Nach Abzentrifugieren des Aluminiumhydroxydeiweiß-Lanadiginkomplexes wird die übriggebliebene (Lanatoxin-Lanatalin-) Fraktion in Vacuo eingedampft

[1] Perrot, Bourcet, Raymond Hamet, Bull. des l'acad. de méd. 3e Ser. 1930, Bd. 104, S. 303. Bull. des sciences pharmacol. 1931, Bd. 38, S. 1.

bis auf ein Volum von 298 ccm. Nach Zusatz von 0,9% NaCl zur Wertbestimmung verwendet.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 17,3 ccm, 16,6 ccm, 19,5 ccm. Mittlerer Fehler: 6,3%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,8 ccm. Also anwesend an Lanatoxin + Lanatalin: $\frac{298}{17,8}$ K.E. = 16,7 K.E. oder $16,7 \cdot \frac{100}{29,7}$ % = 56,2%.

Für Lanadigin + Glykosid IV bleiben also 43,8% der Wirksamkeit übrig.

1. Wertbestimmung der Glykosid IV enthaltenden Restfraktion (Lanatalin + Glykosid IV). Ausgegangen von 1100 ccm Infusum Digitalis lanata II, also von $\frac{1100}{20,17}$ K.E. = 54,5 K.E. Sofort wurde mit Chloroform dreimal ausgeschüttelt und die „saponinhaltige" Restfraktion in 600 ccm NaCl 0,9% gelöst.

Fünf Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 21,5 ccm, 17 ccm, 16,7 ccm, 24,4 ccm, 20,8 ccm. Mittlerer Fehler: 12,7%. Ausgeschaltet Katze Nr. 4. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 19 ccm. Anwesend waren also an Lanatalin + Glykosid IV: $\frac{600}{19}$ K.E. = 31,6 K.E. oder $31,6 \cdot \frac{100}{54,5}$ % = 58%.

2. Wertbestimmung der vom Glykosid IV befreiten Restfraktion (Bestimmung des Lanatalingehaltes). Ausgegangen von 1100 ccm Infusum Digitalis lanata II, also von $\frac{1100}{20,17}$ K.E. = 54,5 K.E. Ausschüttelung während 1 Stunde mit Cholesterin usw. Lanadigin und Lanatoxin entfernt mittels Chloroform. Das übrigbleibende Lanatalin gelöst in 500 ccm NaCl 0,9%.

Vier Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 17 ccm, 13,1 ccm, 16,9 ccm, 17,5 ccm. Mittlerer Fehler: 9,4%. Ausgeschaltet Katze Nr. 2. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,1 ccm. Anwesend also an Lanatalin: $\frac{500}{17,1}$ K.E. = 29,2 K.E. oder $29,2 \cdot \frac{100}{54,5}$ % = 53,6%.

Gehalt an Lanatalin + Glykosid IV = 58 %
„ „ „ = **53,6%**
Gehalt an Glykosid IV: 4,4%.

Die Wertbestimmungen haben einen mittleren Fehler von 6,67%; 11% der Eichungen haben einen größeren Fehler als 8%. Die Wertbestimmung des Glykosids IV fällt also innerhalb der Genauigkeit der Methode.

Die gefundene Zahl von 4,4% darf also nicht als zuverlässig betrachtet werden. Wohl steht fest, daß der Gehalt des Infuses an Glykosid IV äußerst gering ist.

Die indirekte Lanadiginbestimmung ergibt also einen Lanadigingehalt von: 43,8% — 4,4% = 39,4%.

Bei der direkten Bestimmung wurde gefunden 36,6%, es gibt also eine befriedigende Übereinstimmung.

c) Indirekt läßt sich jetzt auch der Lanatoxingehalt bestimmen, und zwar wie folgt:

Gehalt an Lanatoxin + Lanatalin	= 56,2%
„ „ Lanatalin	= 53,6%
Gehalt an Lanatoxin	= 2,6%.

Eine direkte Bestimmung auf Katzen des Lanatoxins ist also wegen der kleinen Mengen unmöglich. Dieses Glykosid ist aber gerade das wichtigste, weil es das kumulierende Prinzip des Digitalis lanata bildet. An isolierten Froschherzen habe ich kontrolliert, ob der oben berechnete Wert ein richtiger ist. Dazu brauchte ich erst 1 K.E. Lanatoxin. Es ist nicht möglich, diese aus einem Infus zu isolieren. (Für die Eichung des erhaltenen Produktes würden 8 l Infus nötig sein.) Wohl gelang mir die Isolierung des Lanatoxins in genügender Menge aus einem Macerat (s. unten). Nun konnte 1 K.E. von diesem Lanatoxin in 10 ccm Froschringer gelöst und eine Grenzdosis für die tödliche Wirkung innerhalb 5 Minuten auf das Froschherz an der Straubkanüle bestimmt werden. Ich isolierte aus 201,7 ccm Infusum lanatae, das sind $\frac{201{,}7}{20{,}17}$ K.E. = 10 K.E., eine Menge Lanatoxin, dessen Wirkungsintensität auf das Froschherz mit 0,38 K.E. Lanatoxin übereinstimmte. In dieser Weise zeigte sich also ein Lanatoxingehalt von $0{,}38 \cdot \frac{100}{10}$ % = 3,8%. Es ergibt sich hieraus, daß mein berechneter Wert mit dem gefundenen im Einklang ist.

Die Zusammensetzung von Infusum Digitalis lanatae 0,1/100 ist demnach:

Gehalt an Lanadigin	= 39,4%
„ „ Lanatoxin (berechnet)	= 2,6%
„ „ Lanatalin	= 53,6%
„ „ Glykosid IV (berechnet)	= 4,4%

Die Zusammensetzung eines Infuses 0,1/100 aus 1 g Folia Digitalis lanata, worin aus dem Blattpulver 49,6 K.E. übergehen, ist berechnet wie folgt:

Gehalt an Lanadigin = 19,5 K.E.
„ „ Lanatoxin = 1,3 K.E.
„ „ Lanatalin = 26,6 K.E.
„ „ Glykosid IV = 2,2 K.E.

VII. Zusammensetzung der Tinktur mittels Spiritus dilutus, bereitet aus Blattpulver von Digitalis lanata II 1:10.

D.l. Verdünnung 1:75 = 16,79 ccm (van Esveld). Durch Extraktion mittels Alkohol 70% (S. G. = 0,89) wird also aus 1 g Blattpulver extrahiert: $10 \cdot \frac{75}{0{,}89 \cdot 16{,}79}$ K.E. = 50,2 K.E.

a) Bestimmung des Glykosid-IV-Gehaltes. Die hämolysierende Grenzkonzentration des Glykosids ist 2,2 K.E. auf 8000 ccm NaCl 0,9%. Die hämolysierende Grenzkonzentration der Tinktur ist: 1:300. Es gibt also in der Tinktur von 1 g Blattpulver einen Gehalt an Glykosid IV von: $\frac{2{,}2 \cdot 300 \cdot 10}{8000 \cdot 0{,}89}$ K.E. = 0,9 K.E., das ist in Prozenten ausgedrückt: $\frac{0{,}9}{0{,}502}\% = 1{,}8\%$.

b) Bestimmung des Lanatoxingehaltes: 1. Bestimmung. Ausgegangen von 10 ccm Tinktur, also von $\frac{10 \cdot 75}{16{,}79}$ K.E. = 44,7 K.E. Nach Kochen in Vacuo mit Äther und Cholesterin wird die übergebliebene Fraktion (Lanadigin + Lanatalin) in 750 ccm NaCl 0,9% gelöst.

Fünf Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 14,7 ccm, 19 ccm, 20,5 ccm, 20,8 ccm, 21,9 ccm. Mittlerer Fehler 10%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 20,5 ccm.

Also anwesend an Lanadigin + Lanatalin: $\frac{750}{20{,}5}$ K.E. = 36,6 K.E. oder $36{,}6 \cdot \frac{100}{44{,}7}\% = 81{,}9\%$. Verlust durch Behandlung mit Äther-Cholesterin: 100% — 81,9% = 18,1%.

Gehalt an Lanatoxin + Glykosid IV = 18,1%
„ „ Glykosid IV = 1,8%
Gehalt an Lanatoxin = 16,3%.

2. Bestimmung. Ausgegangen von 16,79 ccm Tinktur, also von $\frac{16{,}79 \cdot 75}{16{,}79}$ K.E. = 75 K.E. Äther-Cholesterinbehandlung in Vacuo. Verjagen von Äther und Alkohol gegen Wasser.

Restfraktion (Lanadigin + Lanatalin) gelöst in 1298 ccm NaCl 0,9%.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 21,8 ccm, 20,4 ccm, 22,6 ccm. Mittlerer Fehler: 3,7%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 21,6 ccm.

Also anwesend an Lanadigin + Lanatalin: $\frac{1298}{21,6}$ K.E. = 60,1 K.E. oder $60,1 \cdot \frac{100}{75}\% = 80,1\%$.

Verlust durch Behandlung mit Äther-Cholesterin: 100% — 80,1% = 19,9%.

Gehalt an Lanatoxin + Glykosid IV	= 19,9%
„ „ Glykosid IV	= 1,8%
Gehalt an Lanatoxin	= 18,1%.

Diese zwei Bestimmungen ergeben also einen Lanatoxingehalt von: $\frac{16,3 + 18,1}{2}\% = \mathbf{17,2\%}$.

c) Bestimmung des Lanatalingehaltes. 1. Ausgegangen von 10 ccm Tinktur, also von $\frac{10 \cdot 75}{16,79}$ K.E. = 44,7 K.E. Äther-Cholesterinbehandlung. Verjagen von Alkohol gegen Wasser. Abfiltrierung des Cholesterins. Dreimalige Auschüttelung mit Chloroform. Restfraktion (= Lanatalin) gelöst in 600 ccm NaCl 0,9%.

Vier Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 22,7 ccm, 20 ccm, 18,7 ccm, 18 ccm. Mittlerer Fehler: 7,5%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 19,85 ccm.

Also anwesend an Lanatalin:

$$\frac{600}{19,85} \text{ K.E.} = 30,2 \text{ K.E. oder } 30,2 \cdot \frac{100}{44,7}\% = 70\%.$$

2. Ausgegangen von 13,43 ccm Tinktur, also von $\frac{13,43 \cdot 75}{16,79}$ K.E. = 60 K.E. Behandlung wie oben. Lanatalinfraktion gelöst in 583,3 ccm NaCl 0,9%.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 11,5 ccm, 11, 3 ccm, 14,1 ccm. Mittlerer Fehler: 7,2%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 12,3 ccm.

Also anwesend an Lanatalin:

$$\frac{583,3}{12,3} \text{K.E.} = 47,4 \text{ K.E. oder } 47,4 \cdot \frac{100}{60}\% = 79\%.$$

Diese zwei Bestimmungen ergeben einen Lanatalingehalt von: $\frac{70 + 79}{2}\% = \mathbf{74,5\%}$.

d) Bestimmung des Lanadigingehaltes. Oben wurde gefunden für Lanadigin + Lanatalin: 81,9 bzw. 80,1%, im Durchschnitt: 81%. An Lanatalin gefunden 74,5%, bleibt für Lanadigin: 6,5%.

Versucht wurde, eine genügende Menge Lanadigin für eine Wertbestimmung zu isolieren: Ausgegangen von 10 ccm Tinktur, also von $\frac{10 \cdot 75}{16{,}79}$ K.E. = 44,7 K.E. Mit der direkten Methode wird das Lanadigin isoliert und in 160 ccm NaCl 0,9% gelöst.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw. 22,4 ccm, 31,8 ccm, 44,6 ccm. Mittlerer Fehler: 22%. Es ist dies also eine Bestimmung, welche den Anforderungen von de Lind van Wijngaarden nicht entspricht. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 33 ccm. Es ist also anwesend an Lanadigin: $\frac{160}{33}$ K.E. = 4,8 K.E. oder $4{,}8 \cdot \frac{100}{44{,}7}\%$ = 10,7% (nicht ganz zuverlässig).

Als einen Kontrollversuch betrachtet, stimmt der berechnete Lanadigingehalt dennoch befriedigend mit dem durch direkte Bestimmung gefundenen überein.

Die Zusammensetzung einer Tinktur 1 : 10, mittels Spiritus dilutus aus 1 g Digitalis Lanatablattpulver hergestellt (worin aus dem Blatte 50,2 K.E. übergehen), ist wie folgt berechnet:

Gehalt an	Lanadigin	= 3,3 K.E.
„	„ Lanatoxin	= 8,6 K.E.
„	„ Lanatalin	= 37,4 K.E.
„	„ Glykosid IV	= 0,9 K.E.

VIII. Die Zusammensetzung des Maceratums Digitalis lanatae II 0,1/100.

D.l. pro Kilogramm Katze: 23,64 ccm (van Esveld).

Durch Kaltwasserextraktion bekommt man also aus 1 g Blattpulver $\frac{1000}{23{,}64}$ K.E. = 42,3 K.E.

a) Bestimmung des Glykosid-IV-Gehaltes. Die hämolysierende Grenzdosis des Infusums Digitalis lanatae ist eine Verdünnung 1 : 8, worin also eine Konzentration Glykosid IV von: 2,2 K.E. auf 8 l. Die hämolysierende Grenzdosis des Maceratums Digitalis lanatae ist eine Verdünnung 1 : 6. Es gibt also im Maceratum eines Grammes Blattpulver einen Gehalt an Glykosid IV von: $1000 \cdot 6 \cdot \frac{2{,}2}{8000}$ = 1,65 K.E., das ist in Prozenten ausgedrückt: $1{,}65 \cdot \frac{100}{42{,}3}\%$ = 4%.

b) Bestimmung des Lanatoxingehaltes. Ausgegangen von 820 ccm Maceratum, also von $\frac{820}{23,64}$ K.E. = 34,7 K.E. Die Lanatoxinfraktion wurde gelöst in 225 ccm NaCl isotonisch.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 26,3 ccm, 27 ccm, 29,5 ccm. Mittlerer Fehler: 4,6%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 27,6 ccm. Anwesend waren also an Lanatoxin: $\frac{225}{27,6}$ K.E. = 8,15 K.E. oder $8,15 \cdot \frac{100}{34,7}\% = 23,5\%$.

c) Bestimmung des Lanatalingehaltes. Ausgegangen von 820 ccm Maceratum, also von $\frac{820}{23,64}$ K.E. = 34,7 K.E. Die Lanatalinfraktion wurde gelöst in 307 ccm 0,9% NaCl.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 12,8 ccm, 15 ccm, 11,8 ccm. Mittlerer Fehler 9,1%. Durchschnittlicher Wert: 13,2 ccm. Anwesend waren also an Lanatalin: $\frac{307}{13,2}$ K.E. = 23,3 K.E. oder $23,3 \cdot \frac{100}{34,7}\% = 67,1\%$.

d) Bestimmung des Lanadigingehaltes. Durch Berechnung ergibt sich ein Lanadigingehalt von: 100% — (4% + 23,5% + 67,1%) = 5,4%.

Diese Menge Gift gestattet wieder nicht eine Wertbestimmung mittels Katzen zu machen. Am isolierten Froschherzen konnte ich aber kontrollieren, daß dieser berechnete Wert praktisch mit dem wirklichen übereinstimmt.

Die Zusammensetzung eines Maceratums 0,1/100 aus 1 g Folia Digitalis lanata, worin aus dem Blattpulver 42,3 K.E. übergehen, ist wie folgt berechnet:

Gehalt an	Lanadigin	= 2,3 K.E.
„	„ Lanatoxin	= 9,9 K.E.
„	„ Lanatalin	= 28,4 K.E.
„	„ Glykosid IV	= 1,7 K.E.

IX. Die Zusammensetzung der Liquor Digitalis lanata.

(Hergestellt von Dr. Meulenhoff.) D.l. pro Kilogramm Katze Verdünnung 1 : 25 = 22,45 ccm (van Esveld).

Diese Flüssigkeit hämolysiert gar nicht und bildet keinen Schaum. Sie ist also (Saponin) Glykosid-IV-frei.

a) Bestimmung des Lanatoxingehaltes. Ausgegangen von 44,9 ccm Liquor, also von $\frac{44,9 \cdot 25}{22,45} = 50$ K.E. In Vacuo wird der an-

wesende Alkohol verjagt. Die Lanatoxinfraktion wird gelöst in 204 ccm NaCl 0,9%.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 11,8 ccm, 12,1 ccm, 13,4 ccm. Mittlerer Fehler: 5,1%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 12,4 ccm. Anwesend waren also an Lanatoxin: $\frac{204}{12,4}$ K.E. $= 16,45$ K.E. oder $16,45 \cdot \frac{100}{50}\% = \mathbf{32,9\%}$.

b) Bestimmung des Lanatalingehaltes. Ausgegangen von 44,9 ccm Liquor, also von $\frac{44,9 \cdot 25}{22,45} = 50$ K.E. In Vacuo wird wie oben der Alkohol verjagt. Die Latanalinfraktion wird gelöst in 305,5 ccm NaCl 0,9%.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 32,2 ccm, 31,2 ccm, 34,7 ccm. Mittlerer Fehler: 4,1%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 32,7 ccm. Anwesend waren also $\frac{305,5}{32,7}$ K.E. $= 9,3$ K.E. oder $9,3 \cdot \frac{100}{50}\% = \mathbf{18,6\%}$. Daraus ergibt sich ein Lanadigingehalt von $100\% - (32,9\% + 18,6\%) = 49,5\%$.

Die Zusammensetzung der Liquor Digitalis lanata ist also in Prozenten ausgedrückt:

Gehalt	an Lanadigin	= 49,5%
„	„ Lanatoxin	= 32,9%
„	„ Lanatalin	= 18,6%
„	„ Glykosid IV	= 0 %

In den umstehenden Tabellen sind die erhaltenen Zahlen übersichtlich zusammengestellt.

Bei der Betrachtung dieser Tabellen ergibt sich folgendes: Die Digitoxinfraktion aus dem Blatte des Digitalis purpurea geht sowohl in das Infus wie in die Tinktur über.

In dem Kaltwasserextrakt, entstanden durch 6stündige Ausschüttelung mit der 200fachen Menge Wasser, wird dem Blatte kein Digitoxin entzogen, während dagegen durch 48stündige Ausschüttelung mit der 8fachen Menge Wasser das Digitoxin teilweise gelöst wird (Liquor purpurea). Die Gitalinfraktion wird am besten mittels Kaltwasserextraktion extrahiert, auch durch Infundieren wird sie ganz oder fast ganz gelöst. Die Differenz der Zahlen ist so klein, daß sich nicht mit Bestimmtheit sagen läßt, ob geringe Mengen hier schon im Blatte zurückbleiben, oder (was wahrscheinlicher ist) durch die erhöhte Temperatur in unwirksame Bestandteile zersetzt werden. In der Tinktur aber geht das Gitalin nur

Tabelle 1. Zusammensetzung und Stärke der galenischen Präparate, hergestellt aus 1 g Pulvis foliorum Digitalis purpureae.

Galenisches Präparat	Fraktion A Eiweißfraktion Digitoxin		Fraktion B Chloroformfraktion Gitalin		Fraktion C Restfraktion Bigitalin	
	in K.E.[1]	in %	in K.E.	in %	in K.E.	in %
Infusum, 0,5/100 = 12,3 K.E.	3,8	31,4	4,3	34,7	4,2	33,9
Tinctura (Spir. dil.) 1 : 10 = 13,6 K.E.	3,8	28,0	2,5	18,6	7,3	53,4
Tinctura (Spir. fort.) 1 : 10 = 9 K.E.	3	33,3	0,4	4,3	5,6	62,4
Tinctura (Spir. absol.) 1 : 10 = 9,4 K.E.	3,5	37,5	Spur	—	5,9	62,5
Maceratum 0,5/100 = 8,4 K.E.	—	—	4,7	55,7	3,7	44,3
Liquor. (in %)	—	12,4	—	72,2	—	15,4

Tabelle 2. Zusammensetzung und Stärke der galenischen Präparate, hergestellt aus 1 g Pulvis foliorum Digitalis lanata.

Galenisches Präparat	Fraktion A Eiweißfraktion Lanadigin		Fraktion B Chloroformfraktion Lanatoxin		Fraktion C Restfraktion Lanatalin		Fraktion D Saponinartige Fraktion Glykosid IV	
	in K.E.	in %	in K.E.	in %	in K.E.	in %	in K.E.	in %
Infusum 0,1/100 = 49,6 K.E.	19,5	39,4	1,3	2,6	26,6	53,6	2,2	4,4
Tinctura (Spir. dil.) 1 : 10 = 50,2 K.E.	3,3	6,5	8,6	17,2	37,4	74,5	0,9	1,8
Maceratum 0,1 : 100 = 42,3 K.E.	2,3	5,4	9,9	23,5	28,4	67,1	1,7	4,0
Liquor. (in %)	—	49,5	—	32,9	—	18,6	—	—

teilweise über; je höher die verwendete Alkoholkonzentration, desto weniger wirksames Gitalin die Tinktur enthält. Der hierdurch entstandene Wertverlust der Tinkturen wird, wenn Spiritus dilutus zur Herstellung verwendet wird, durch die ausgiebige Extraktion des Bigitalins aus dem Blatte überkompensiert. Auch in den übrigen Tinkturen findet

[1] K.E. = eine Katzeneinheit = die Menge Gift, benötigt um 1 kg Katze zu töten.

sich mehr Bigitalin als im Infus. Die Wertunterschiede der Tinkturen, je nachdem man Spir. dil., Spir. fort. oder Spir. absol. verwendet, wird hauptsächlich verursacht durch das Benehmen des Gitalins, welches Glykosid sich schwer in höheren Alkoholkonzentrationen löst. Das Bigitalin geht besser in warmwässerige Lösungen als in kaltwässerige über. Das Infusum ist nicht ein „idealer" Extrakt: es wird durch Infundieren nicht alle Wirksamkeit dem Blattpulver entzogen.

Theoretisch sind in 1 g Pulver anwesend:

An Digitoxin	=	3,8 K.E.
„ Gitalin	=	4,7 K.E.
„ Bigitalin	=	7,3 K.E.
Total	=	15,8 K.E.

Die von Straub[1] angegebene Methode zur quantitativen Extraktion aller anwesenden Glykoside aus dem Blatte besteht darin, daß man erst das Blattpulver maceriert und darauf dasselbe Pulver mit Spiritus dilutus extrahiert.

Aus meiner Tabelle 1 geht hervor, daß eine solche Methode sich in der Tat zur Erhaltung eines Idealextraktes bewährt. Aber auch durch einfache Perkolation mittels Spiritus dilutus kann man sehr wohl der Idealextraktwirksamkeit nahekommen.

Die Lanadiginfraktion ist am größten im Infusum lanatae. Auch im Liquor lanatae gibt es eine bedeutende Menge dieses Glykosids. Merkwürdigerweise ist das Maceratum nicht lanadiginfrei (vgl. das digitoxinfreie Maceratum purpurea), und geht nur wenig Lanadigin in die Tinktur, obwohl das Glykosid sehr gut alkohollöslich ist. Die Lanatoxinfraktion findet sich in der Tinktur, in Liquor und Maceratum. Das nicht hitzebeständige Produkt ist nur spurweise im Infus nachweisbar.

Die Lanatalinfraktion wird am besten mittels Alkohol extrahiert. Warmwässerige Extraktion des Lanatablattpulvers ist offenbar für das Lanatalin die am wenigsten geeignete Methode.

Durch die vollständige Extraktion des Lanatalins geht die größte Menge wirksamer Bestandteile des Blattes in die Tinktur über. Aber dennoch gibt es auch unter den Lanataprodukten keinen Extrakt, worin alle wirksamen Bestandteile des Blattpulvers in eine wirksame Form übergegangen sind. Den absoluten Gehalt an Glykosiden des Lanatablattpulvers kann man berechnen, wenn man für jede Fraktion die höchsten Zahlen addiert:

---

[1] Straub, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1917, Bd. 80, S. 52.

Lanadigin	= 19,5	K.E.
Lanatoxin	= 9,9	K.E.
Lanatalin	= 37,4	K.E.
Glykosid IV	= 2,2	K.E.
Insgesamt	69,0	K.E.

Theoretisch kann ein Idealextrakt also 69 K.E. auf 1 g Blattpulver enthalten.

Maceriert man das Lanatablattpulver, extrahiert man dann mit Spiritus dilutus und infundiert man zuletzt, so wird theoretisch ein solcher Extrakt entstehen.

In einem Stadium dieser Untersuchungen, worin mir noch nicht all diese Tatsachen bekannt waren, habe ich einen Extrakt hergestellt, wobei ich zuerst macerierte, dann infundierte:

c) Wertbestimmung dieses Extraktes aus 1 g Blattpulver von Digitalis lanata. Das Pulver wird erst 6 Stunden mit 500 ccm Wasser ausgeschüttelt, dann wird es, während $^1/_2$ Stunde mit 500 ccm frischem Wasser infundiert. Durch Zusatz von Waschwasser ist 1200 ccm NaCl 0,9% anwesend.

Vier Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 23,3 ccm, 18 ccm, 18,8 ccm, 22,9 ccm. Mittlerer Fehler: 11,2%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 20,7 ccm. Anwesend sind also $\frac{1200}{20,7}$ K.E. = 58 K.E. oder 58 — 49,6 = 8,4 K.E. mehr als im Infus.

Wenn ich jetzt diesen Befund analysiere, so ergibt sich folgendes:

Durch Maceration habe ich extrahiert an Lanatoxin: 9,9 K.E., an Lanatalin: 28,4 K.E.

Durch nachherige Infusion wird aus dem Blattpulver extrahiert an Lanadigin: 19,5 K.E., an Glykosid IV: 2,2 K.E.

Insgesamt habe ich also aus dem Blattpulver 9,9 K.E. + 28,4 K.E. + 19,5 K.E. + 2,2 K.E. = 60 K.E. extrahieren können.

Mein Befund kommt damit befriedigend überein und ist ein Beweis dafür, daß meine Zahlen zuverlässig sind.

Bei Digitalis lanata ist es also deutlich nachweisbar, daß bei der Erklärung der auftretenden verschiedenen Stärken der galenischen Präparate die mehr oder weniger vollständige Bigitalin- (Lanatalin-) Extraktion eine wichtige Rolle spielt.

Zusammenfassung.

Es ist mir gelungen, in allen galenischen Präparaten von Digitalis purpurea und Digitalis lanata die einzelnen Fraktionen zu bestimmen. Dabei hat es sich herausgestellt, daß im Digitalis lanata vier Fraktionen anwesend sind, welche ich, so weit dieses möglich war, mit denen von Mannich c. s. identifiziert habe.

In einigen Fällen, wo zwei verschiedene Muster von Purpurea- oder Lanatablätter zur Untersuchung kamen, wurden nur unbedeutende Unterschiede zwischen den Mustern gefunden.

Dagegen liefern die Tabellen 1 und 2 ein buntes Bild, woraus sofort hervorgeht, wie groß der Unterschied zwischen den verschiedenen Präparaten aus demselben Blattpulver ist.

Entgegen früheren Meinungen aus dem hiesigen Institut scheint aus meinen Versuchen hervorzugehen, daß doch nicht alle Wirksamkeit aus dem Blattpulver in $^1/_2$% Infus übergeht.

Es muß dann angenommen werden, daß beim Infundieren ein Teil des Bigatilins zerstört wird. Bekannt ist, daß durch Behandlung der Blätter mit Alkohol diese bisweilen beim späteren Infundieren mehr Wirksamkeit liefern als die unvorbehandelte Droge. Das beruht wahrscheinlich darauf, daß durch die Alkoholbehandlung das Bigitalin widerstandsfähiger wird.

Meulenhoff spricht schon seit Jahren von „Stabilisieren" der Blätter durch Alkoholdampf.

Aus dem Lanatablatt ist auch ohne die Verwendung von Alkohol ein Extrakt herzustellen (indem man hintereinander maceriert und infundiert), der zwar noch nicht alle Wirksamkeit aus dem Blatt enthält, jedoch bedeutend stärker ist als das Infus.

Es bleiben natürlich noch Fragen zu beantworten, z. B. weshalb in das Infus aus Purpurea so viel Gitalin übergeht, während doch das reine Glykosid sehr wenig hitzebeständig ist; weshalb in das Macerat nicht, in den konzentrierten kaltwässerigen Extrakt (woraus der Liquor hergegestellt wird) wohl Digitoxin übergeht?

Hier liegen offenbar noch komplizierte Verhältnisse vor, die durch das Studium der reinen isolierten Glykoside nicht gelöst werden können, sondern wobei auch die anderen Bestandteile des Blattes in Betracht gezogen werden müssen.

Die Möglichkeit solcher Versuche liegt jetzt, wo wir die Fraktionen aus jedem Präparat bestimmen können, vor.

IV. Die Kumulation der galenischen Präparate aus Folia Digitalis purpurea und aus Folia Digitalis lanata, im Zusammenhang mit ihrem Gehalt an reinen Glykosiden.

Mit 1 Textabbildung.

Die Kumulation ist eine der wichtigsten Eigenschaften der Digitalispräparate. Vor kurzem hat van Esveld[1] mit einer genau beschriebenen zuverlässigen Methodik bestimmt, wie stark die Kumulation der verschiedenen galenischen Präparate nach intravenöser Injektion der halben tödlichen Dosis ist.

Wo ich jetzt (III. Mitteilung) die Zusammensetzung dieser Präparate kenne, ist es möglich zu studieren, ob die Kumulation des Produktes vollständig durch seine Zusammensetzung aus Digitoxin, Gitalin und Bigitalin (s. Lanadigin, Lanatoxin, Lanatalin und Glykosid IV) zu erklären ist.

Dazu braucht man, außer der quantitativen Zusammensetzung, auch die Kumulationswerte der reinen Glykoside. Dann kann die Kumulation der galenischen Präparate berechnet und mit den von van Esveld empirisch bestimmten Zahlen verglichen werden.

In der Abb. 1 (aus der Arbeit von van Esveld) finden sich seine sämtlichen Resultate. Ich habe in meinen Versuchen die Kumulation nicht an verschiedenen Tagen, sondern nur am 2. Tage bestimmt. Es handelt sich also in dieser Mitteilung nur um die Verhältnisse am 2. Tag nach der Injektion.

Aus den van Esveldschen Untersuchungen geht im allgemeinen hervor, daß die Produkte aus Digitalis lanata weniger kumulieren als Purpureaprodukte. Betrachtet man das Kumulationsvermögen der Präparate untereinander, so ergeben sich ganz andere Verhältnisse bei Lanata- als bei Purpureaprodukten.

Z. B.: Das Infusum und die Tinctura purpureae kumulieren etwa gleich stark und etwa gleichartig.

Bei Digitalis lanata aber kumuliert die Tinktur mehr als das Infusum.

---

[1] van Esveld, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1931, Bd. 160, S. 375.

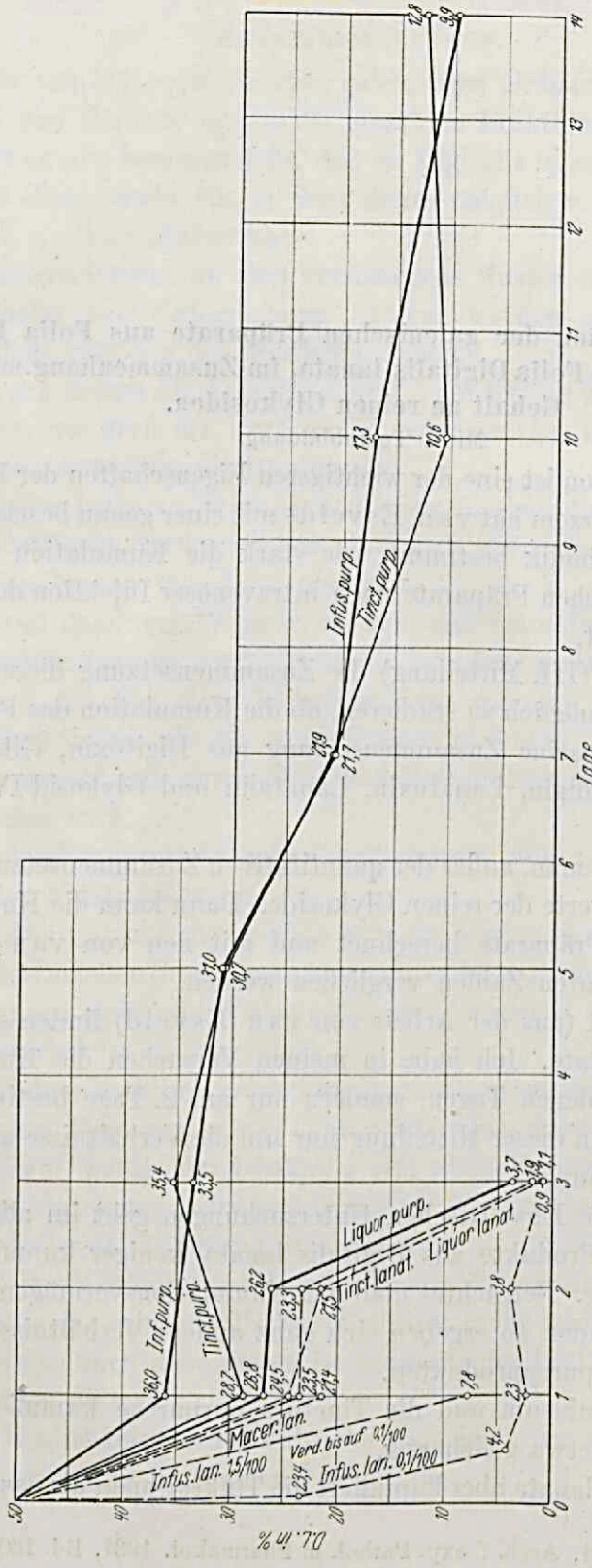


Abb. 1. Die zugeführte Dosis beträgt 50% der Dosis letalis. Die Zahlen geben an, wieviel Prozent der Dosis letalis nach einer bestimmten Anzahl Tagen im Mittel noch in den Versuchstieren zurückgeblieben ist. Die Kurven sind (mit Ausnahme des 1,5/100 Infuses der Digitalis lanata II) durch Kombination von je zwei Kurven gleichartiger Präparate zusammengestellt (nach van Esveld).

Eine zweite Merkwürdigkeit liefert die Betrachtung der Liquores der beiden Digitalisarten. Der Liquor Digitalis purpurea ist namentlich in der Absicht hergestellt, ein wenig kumulierendes Digitalisprodukt zu bekommen, nebenbei aber auch zur intravenösen Injektion.

Unter den Purpureaprodukten bildet der Liquor in der Tat ein solches Heilmittel. Aber bei Digitalis lanata ist das gar nicht der Fall: der Liquor lanatae kumuliert mehr als das Infusum lanatae.

Am auffallendsten ist die Vergleichung der kalt- und warmwässerigen Extrakte, der Macerate und Infuse. Straub[1] lenkt schon die Aufmerksamkeit darauf hin, daß das Maceratum purpureae ein brauchbares, nicht kumulierendes Purpureaprodukt ist. Bei dem Digitalis lanata aber konstatiert van Esveld für das Maceratum einen dreifach höheren Kumulationswert als für das Infus.

Zum Schluß ist das äußerst geringe Kumulationsvermögen des Infusum lanatae in den Versuchen von van Esveld auffallend.

Welche Faktoren spielen hier eine Rolle?

In dieser Mitteilung wird angegeben, inwieweit der verschiedene Glykosidgehalt der Produkte hier von Bedeutung ist.

Von den reinen Glykosidfraktionen wurden untersucht: Digitoxin, Gitalin, Bigitalin, Lanadigin, Lanatoxin und Lanatalin. Die Isolierungsmethode und die Wertbestimmungen der Glykosidlösungen sind in der III. Mitteilung publiziert.

Der Katze in Äthernarkose wurde 50% der D.l. mit einer konstanten Geschwindigkeit von 1 ccm pro Minute intravenös einverleibt. Die Injektion dauerte etwa 20 Minuten. Die Hautwunde wurde möglichst steril behandelt.

2 Tage nach der Infusion der halben tödlichen Dosis wurden die Katzen wieder mit Äther narkotisiert. Mit der Digitaliswertbestimmungsmethode von Hatcher-de Lind van Wijngaarden wurde jetzt wieder die tödliche Dosis der ursprünglichen Glykosidlösung an diesen Katzen bestimmt.

Der Unterschied zwischen dieser und der tödlichen Dosis bei unvorbehandelten Tieren zeigt, wieviel Prozent der D.l. nach 2 Tagen noch durchschnittlich in den Versuchstieren zurückgeblieben ist. Gravide Katzen wurden nicht mitgezählt. Die Berechnung der D.l. pro Kilogramm Katze 2 Tage nach der ersten Injektion geschah nach dem Gewicht, welches die Tiere am Tage des Todes besaßen. Dieses Gewicht war durchschnittlich weniger als 100 g zurückgefallen. Nach Infusion der Rohprodukte ist dieser Gewichtsverlust durchschnittlich höher.

[1] Straub, Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 24.

Protokolle.

I. Digitoxinfraktion.

(Eiweißfraktion aus Digitalis purpurea.)

D.l. pro Kilogramm Katze 17,3 ccm.

1. III. 1930. Vier Katzen bekommen in etwa 20 Minuten einen intravenösen Einlauf von 50% der D.l.

3. III. 1930. 48 Stunden nach dem ersten Einlauf wird bei diesen Katzen mit ähnlicher Einlaufsgeschwindigkeit und mit demselben Präparat (welches im Kühlzimmer [+1° bis +3°] aufbewahrt wurde), die tödliche Dosis bestimmt. Diese war bzw.: 16,1 ccm, 11,2 ccm, 9,2 ccm, 10,1 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 11,7 ccm.

Durchschnittlich pro Kilogramm Katze zurückgeblieben: 17,3 ccm —11,7 ccm = 5,6 ccm oder $5{,}6 \cdot \frac{100}{17{,}3}\,\% = 32{,}4\,\%$ der D.l.

van Esveld schaltet bei dieser Berechnung Katzen aus, welche mehr als 25% vom durchschnittlichen Wert abweichen.

Schalte ich Katze Nr. 1 aus, so ist der Kumulationswert des Digitoxins: 41% der D.l.

II. Gitalinfraktion.

(Digitoxinfreie Chloroformfraktion aus Digitalis purpurea.)

D.l. pro Kilogramm Katze: 23,4 ccm.

Fünf Katzen. Nach 48 Stunden war die D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 18,4 ccm, 27,2 ccm, 26,6 ccm, 21,4 ccm, 33,3 ccm.

Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 25,4 ccm. (Schaltet man die Katzen Nr. 1 und 5 aus, dann ist dieser Wert: 25,1 ccm.)

Jedenfalls ist keine Kumulation nachzuweisen.

III. Bigitalinfraktion.

(Restfraktion aus Digitalis purpurea.)

D.l. pro Kilogramm Katze: 14,5 ccm.

Fünf Katzen. Nach 48 Stunden war die D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 15 ccm, 21,8 ccm, 11,1 ccm, 20,9 ccm, 12,7 ccm.

Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 16,3 ccm.

Schaltet man bei der Berechnung die Katzen Nr. 2, 3 und 4 aus, dann ist der durchschnittliche Wert: 13,85 ccm und man schließt nach 2 Tagen auf eine Kumulation des Bigitalins von: 14,5 ccm—13,85 ccm = 0,65 ccm oder $0{,}65 \cdot \frac{100}{14{,}5}\,\% = 4{,}5\,\%$ der D.l.

IV. Lanadiginfraktion.

(Eiweißfraktion aus Digitalis lanata.)

D.l. pro Kilogramm Katze: 19,4 ccm. Sechs Katzen. Nach 48 Stunden war die D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 13,6 ccm, 18 ccm, 14,3 ccm,

17 ccm, 21,8 ccm, 16,4 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 16,85 ccm. Durchschnittlich zurückgeblieben pro Kilogramm Katze: 19,4 ccm—16,85 ccm = 2,55 ccm oder $2{,}55 \cdot \frac{100}{19{,}4}\,\% = 13{,}1\,\%$ der D.l.

Schaltet man Katze Nr. 5 aus, dann ist der durchschnittliche Wert: 15,9 ccm und man schließt nach 2 Tagen auf eine Kumulation des Lanadigins von: 19,4 ccm—15,9 ccm = 3,5 ccm oder $3{,}5 \cdot \frac{100}{19{,}4}\,\% = 18\,\%$ der D.l.

V. Lanatoxinfraktion.

(Chloroformfraktion aus Digitalis lanata.)

15 g Lanatablattpulver werden mit 3 Teilen Wasser und 1 Teil Chloroform (jedesmal 400 ccm) im Schüttelapparat ausgeschüttelt. Im Scheidetrichter wird das Chloroform von der Restflüssigkeit getrennt. Das Chloroform wird in Vacuo verjagt unter allmählichem Beitropfen von Wasser. Jetzt wird 300 ccm Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit (s. Mitteilung III) hinzugefügt und mit 30 ccm Aluminiumhydroxyd zentrifugiert. Die Lanatoxinlösung steht als klare Flüssigkeit in den Zentrifugenröhren. Sie wird verdünnt bis 1060 ccm NaCl 0,9% und zur Wertbestimmung verwendet. Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 16,4 ccm, 19,4 ccm, 18 ccm. Mittlerer Fehler: 5,6%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,9 ccm.

Bestimmung des Kumulationswertes dieser Flüssigkeit.

Fünf Katzen. Nach 48 Stunden war die D.l. pro Kilogramm Katze: 8,3 ccm, 10,8 ccm, 8,6 ccm, 12,5 ccm, 6,1 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 9,26 ccm. Durchschnittlich zurückgeblieben: 17,9 ccm—9,26 ccm = 8,64 ccm oder $8{,}64 \cdot \frac{100}{17{,}9}\,\% = 48{,}3\,\%$. Schaltet man Katzen Nr. 4 und 5 aus, dann ist der durchschnittliche Wert: 9,23 ccm und man schließt nach 2 Tagen auf eine Kumulation des Lanatoxins von: 17,9 ccm—9,23 ccm = 8,67 ccm oder $8{,}67 \cdot \frac{100}{17{,}9}\,\% = 48{,}4\,\%$ der D.l.

VI. Lanatalinfraktion.

(Restfraktion aus Digitalis lanata.)

D.l. pro Kilogramm Katze: 11,65 ccm. Vier Katzen. Nach 48 Stunden war die D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 14,9 ccm, 19 ccm, 13,3 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 15,73 ccm Lanatalinlösung. Das Lanatalin kumuliert also nicht. Ich weise darauf hin, daß diese Katzen sogar eine etwa 40% höhere tödliche Dosis ertragen. Diese

Tatsache kann nicht durch einen eventuellen Rückgang der Toxizität des Lanatalins in den 2 Tagen erklärt werden. Ich habe auch Katzen mit Lanatalin vorbehandelt und nach 2 Tagen mit Strophanthinlösungen injiziert: gegen Strophanthin zeigten sich die Tiere auch widerstandsfähiger. Ich komme hierauf später zurück.

Um meine Ergebnisse soviel wie möglich mit den van Esveldschen in Einklang zu bringen, verwende ich die Kumulationswerte der einzelnen Glykoside, welche sich aus meinen Protokollen nach Ausschaltung derjenigen Katzen ergeben, welche mehr als 25% von dem durchschnittlichen Wert ihrer Gruppen abweichen.

Meine Berechnung stimmt dadurch völlig mit der von van Esveld überein. Übrigens besteht in meinem Falle nur ein sehr geringer Unterschied, ob man diese stark abweichenden Zahlen ausschaltet oder nicht. Durch das Ausschalten werden die Werte für Digitoxin, Bigitalin und Lanadigin etwas höher.

Kumulationsversuche mit Glykosid IV sind nicht angestellt worden. Weil das Glykosid IV sehr leicht auswaschbar aus dem Froschherzen ist, kann man annehmen, daß es auch nicht kumuliert.

Zusammenfassend habe ich mit einer meiner Meinung nach zuverlässigen Methode gezeigt, daß, wenn 50% der tödlichen Dosis intravenös einverleibt wird, nach 2 Tagen in der Katze noch anwesend sind von

Digitoxin:	41	%	der	D.l.	oder	82	%	der	eingespritzten	Dosis
Gitalin:	0	„	„	„	„	0	„	„	„	„
Bigitalin:	4,5	„	„	„	„	9	„	„	„	„
Lanadigin:	18	„	„	„	„	36	„	„	„	„
Lanatoxin:	48,4	„	„	„	„	96,8	„	„	„	„
Lanatalin:	0	„	„	„	„	0	„	„	„	„

Wenn ich jetzt einer Katze von 2 kg intravenös eine halbe tödliche Dosis eines Digitalisproduktes injiziere, das ist also 1 K.E., so bin ich imstande, für jedes Präparat die folgende (hier für das Infusum purpurea ausgearbeitete) Berechnung zu machen: der Katze wird einverleibt 1 K.E. Gift, das sind also (s. Mitteilung III): 0,314 K.E. Digitoxin, 0,347 K.E. Gitalin und 0,339 K.E. Bigitalin.

Nach 2 Tagen muß davon noch anwesend sein:

an Digitoxin: 0,82 · 0,314 K.E. = 0,257 K.E.
„ Gitalin: 0,000 · 0,347 K.E. = 0,000 K.E.
„ Bigitalin: 0,090 · 0,339 K.E. = 0,03 K.E.

Nach 2 Tagen ist vom Infus theoretisch noch 0,287 K.E. da.

Das ist 28,7% der injizierten Dosis und 14,35% der D.l. des Versuchstieres. Wird, statt Infusum Digitalis pupurea, Tinctura Digitalis pur-

purea 1 : 10 (Spiritus dilutus) injiziert, so ist nach 2 Tagen noch im Organismus zu erwarten:

0,28 · 0,82 K.E. (Digitoxin) + 0,186 · 0 K.E. (Gitalin) + 0,534 · 0,090 K.E. (Bigitalin) = 0,234 K.E., das ist 23,4% der injizierten Dosis oder 11,7% der D.l.

Die in gleicher Weise berechneten Werte für die sonstigen Präparate (ausgedrückt in der D.l.) sind:

Präparat	Nach 2 Tagen im Versuchstier noch
Infusum Digitalis purpurea 0,5 : 100	14,3 %
Tinctura „ „ 1,0 : 10 (Spiritus dilutus)	11,7 „
„ „ „ 1,0 : 10 („ fort.) .	16,4 „
„ „ „ 1,0 : 10 (Alkohol absolut.)	18,2 „
Maceratum „ „ 0,5 : 100	2,0 „
Liquor „ „	5,7 „
Infusum „ lanata 0,1 : 100	8,3 „
Tinctura „ „ 1,0 : 10 (Spiritus dilutus)	9,5 „
Maceratum „ „ 0,1 : 100	11,3 „
Liquor „ „	24,8 „

Es zeigt sich also, daß, wenn man einer Katze die halbe tödliche Dosis Digitalisrohprodukt intravenös injiziert (und man setzt voraus, daß es bloß die Glykoside sind, welche die Kumulation des Rohproduktes verursachen), man nach 2 Tagen ganz verschiedene zurückgebliebene Mengen des Produktes im tierischen Organismus erwarten kann, je nachdem man das eine oder das andere Präparat untersucht.

Welche Werte findet nun van Esveld, der gerade diese Werte empirisch bestimmt hat?

Ich drucke hier eine vergleichende Tabelle ab von den empirisch gefundenen Kumulationswerten der galenischen Produkte und den von mir „theoretisch" bestimmten Kumulationswerten derselben Präparate:

Präparat	Kumulation nach 2 Tagen berechnet (Hoekstra) in %	Kumulation nach 2 Tagen gefunden (van Esveld) in %
Infusum Digitalis purpurea	14,3	35,0
Tinctura „ „ (Spiritus dilutus)	11,7	32,0
Liquor „ „	5,7	26,2
Infusum Digitalis lanata	8,3	3,8
Tinctura „ „	9,5	23,3
Liquor „ „	24,8	21,5

Ehe ich jetzt die hervortretenden Einzelheiten bespreche, muß ich darauf eingehen, inwieweit hier Schlußfolgerungen gezogen werden dürfen.

Eine der Ursachen für die Differenzen zwischen den von mir berechneten und den von van Esveld empirisch gefundenen Werten könnte eine Addierung der Fehlerquellen sein. Wir wissen, daß eine Wertbestimmung, ausgeführt unter den von de Lind van Wijngaarden formulierten Kautelen, einen mittleren Fehler ergibt von 6,67% und daß noch 11% der Wertbestimmungen einen größeren Fehler haben als 8%.

van Esveld hat gezeigt, daß bei einer Kumulationsbestimmung mit einem bedeutend größeren Fehler gerechnet werden muß.

Die Isolierung und die Bestimmung der Glykoside — in der III. Mitteilung beschrieben — geschieht natürlich auch mit den nicht zu umgehenden Fehlern. Die gefundenen Werte der verschiedenen Fraktionen werden mit Kumulationszahlen multipliziert, welche an sich auch wieder eine nur verhältnismäßige Genauigkeit besitzen.

Es ist übrigens klar, daß das berechnete, aus Addierung zweier Zahlen entstandene Resultat weniger Sicherheit verschafft als der von van Esveld in direktem Versuch gefundene Wert, um so mehr, weil jede dieser Zahlen eine ziemlich große Fehlergrenze hat.

Es würde aber falsch sein, die Verschiedenheiten zwischen den gefundenen und den berechneten Kumulationswerten nur in dieser Weise erklären zu wollen. Bei dem Digitalis purpurea wird die Kumulation durch den Digitoxingehalt beherrscht. Wenn nun der berechnete Wert tatsächlich höher wäre, so müßte doch auch dieser Digitoxingehalt im selben Verhältnis größer sein, als ich ihn gefunden habe.

Beim Infusum Digitalis purpurea müßte dann der Digitoxingehalt $\frac{35}{14{,}3} \cdot 31{,}3\% = 75{,}9\%$ sein. Einen Digitoxingehalt von 75,9% gibt es aber im Infus sicher nicht. Die von mir ausgeführte Wertbestimmung des Digitoxins geschah mit einer Fraktion, welche nach der direkten Methode isoliert worden war. Der gefundene Wert stimmte überein mit dem gefundenen Kontrollwert, welchen ich erhielt, als ich die Gitalin-Bigitalinwerte von dem ursprünglichen Wert des Infuses subtrahierte. In der III. Mitteilung habe ich darauf hingewiesen, daß es eben die Digitoxingehaltsbestimmung aus den Rohprodukten ist, bei welcher am wenigsten mit einem Verlust zu rechnen ist. Wo die gefundenen Kumulationswerte der einzelnen Glykosidfraktionen mit und ohne Ausschaltung nicht übereinstimmen, habe ich immer die höchsten Zahlen (mit Ausschaltung) genommen.

Wenn es hier also einen Fehler gibt, so läßt sich erwarten, daß der von mir bestimmte Wert zu hoch ist.

Daß sich die auffallenden Unterschiede zwischen van Esvelds Zahlen und den meinigen nur auf Addierung der Methodikfehler gründen, kann man als ausgeschlossen betrachten.

Aus der Tabelle geht also hervor, daß bei den Purpureapräparaten die Kumulation bedeutend höher ist, als aus dem Glykosidgehalt zu erwarten wäre.

Bei Digitalis lanata ist das nur der Fall, soweit es sich um die Tinktur handelt; die Zahlen für Infus und Liquor sind hier kleiner als die berechneten.

Wenn man vorläufig nur die Purpureapräparate betrachtet, so sieht man, daß die Reihenfolge der Präparate bei van Esveld und mir dieselbe ist. Daraus geht hervor, daß die Zusammensetzung der Präparate, was die Glykoside betrifft, doch sicher die Kumulation mitbestimmt.

Für die Tatsache, daß die galenischen Präparate — jedes für sich — so viel stärker kumulieren als aus dem Glykosidgehalt hervorgeht, müssen andere Erklärungen gefunden werden.

Darüber wird in der V. Mitteilung berichtet werden.

Bei den Lanataprodukten komme ich durch Berechnung zu einer anderen Reihenfolge, als van Esveld sie gefunden hat. Auch hier liegen also Verhältnisse vor, welche eines näheren Studiums bedürfen.

In Bezug auf ihre Zusammensetzungen aus reinen Glykosiden kann jetzt von jedem Präparat folgendes gesagt werden:

1. Infusum Digitalis purpureae 0,5 : 100.

Dieses Präparat besitzt den höchsten Kumulationswert (u. a.), weil sein Gehalt an Digitoxin der höchste unter den Purpureaprodukten ist.

2. Tinctura Digitalis purpureae 1 : 10. (Spiritus dilutus.)

Kumuliert fast ebenso stark wie das Infusum purpureae, hauptsächlich weil sein Digitoxingehalt fast ein gleich hoher ist als der des Infusum purpureae.

Wenn die Tinkturen mit höher konzentriertem Alkohol hergestellt werden, so ist der Gitalingehalt geringer, die akute Giftigkeit also kleiner; da jetzt ein nicht kumulierender Teil vernichtet ist, ist die Kumulation solcher Tinkturen höher.

3. Maceratum Digitalis purpureae 0,5 : 100.

Unter den Purpureaprodukten muß dieses Präparat das am wenigsten kumulierende sein. Dieses Heilmittel wird noch weniger im Körper gespeichert als der Liquor purpurea.

4. Liquor Digitalis purpureae standardisata (Digisol). (Ed. V. Ned. Pharm.)

Dieses Präparat, welches in Holland vielfach verwendet wird, nimmt eine Stelle ein zwischen Tinktur und Infus einer- und Maceratum andererseits.

5. Infusum Digitalis lanata 0,1 : 100.

Unter den Lanataprodukten ist dieses Präparat das am wenigsten kumulierende. Kumulation ist hier ausgeschlossen durch den sehr geringen Gehalt an Lanatoxin. Während also das Purpureainfus am meisten kumuliert, ist das Verhältnis bei Lanata gerade umgekehrt. Es muß darauf hingewiesen werden, von welchem Interesse es ist, bei der Herstellung des Infuses genau die Temperatur, wobei infundiert wird, zu beachten. Das Lanatoxin wird durch Wärme nämlich unwirksam. Infundiert man also bei niedriger Temperatur, so besteht die Gefahr, daß weniger Lanatoxin vernichtet wird und man also ein ganz anderes Produkt mit höherem Kumulationswert erhält.

6. Tinctura Digitalis lanatae 1 : 10. (Spiritus dilutus.)

Hierin gibt es mehr Lanatoxin; dadurch kumuliert das Präparat deutlich mehr als das Infusum lanatae. Es kann aber gar nicht mit Tinctura purpurea verglichen werden. Jedenfalls kann aus diesem Präparat nicht ebensoviel vom Organismus gespeichert werden, als aus dem Maceratum und dem Liquor lanatae.

In einem Versuch, welcher noch nicht erwähnt wurde, bestimmte ich den Lanatoxingehalt einer mittels Spiritus fortior hergestellten Tinktur auf 7,1 K.E. pro 1 g Ausgangsdroge, d. h. 1,5 K.E. weniger als in der Tinktur mit Spiritus dilutus. Es zeigt sich also, daß bei Verwendung von konzentriertem Alkohol weniger Lanatoxin in die Tinktur übergeht.

Da das Lanatoxin der kumulierende Bestandteil ist, wird also die Tinktur aus Lanata weniger kumulieren, je höher die Alkoholkonzentration ist. Oben sahen wir, daß bei Purpurea die Verhältnisse gerade umgekehrt liegen.

7. Maceratum Digitalis lanatae 0,1 : 100.

Diese Flüssigkeit enthält das kumulierende Prinzip. Der Kaltwasserextrakt aus Digitalis lanata wird also viel mehr vom tierischen Organismus gespeichert, als der analoge Extrakt aus Digitalis purpurea. Während das Maceratum purpureae weniger kumuliert als das Infusum purpureae, sind die Verhältnisse bei den Lanataprodukten umgekehrt.

8. Liquor Digitalis lanatae.

Dieses Präparat enthält wieder viel Lanatoxin, es kommt hier sogar noch in einem höheren Prozentsatz vor als im Maceratum.

Auf Grund dieses Lanatoxingehaltes und des ebenfalls hohen Gehaltes an dem mittelmäßig stark kumulierenden Lanadigin, erwartet man hier, daß der Liquor lanatae das am meisten kumulierende Präparat der ganzen untersuchten Reihe sein muß, während der Liquor purpureae in dieser Beziehung die letzte Stelle einnehmen muß.

van Esveld findet merkwürdigerweise, daß beide Produkte etwa gleich stark kumulieren. Der Grund, weshalb die Zahlen von van Esveld andere sind als die von mir berechneten, wird in der folgenden Mitteilung analysiert werden. Hier kann jedoch schon die Aufmerksamkeit darauf gelenkt werden, daß der Liquor lanatae stärker kumulierende Glykoside enthält als der Liquor purpureae. Wenn unter bestimmten Umständen, wie sie in den Versuchen van Esvelds vorlagen, dieser Unterschied nicht nachzuweisen ist, so darf daraus keineswegs die Schlußfolgerung gezogen werden, daß dieser Unterschied niemals, auch nicht bei der klinischen Anwendung, hervortreten wird. Eine Verwechslung der beiden genannten Präparate ist also nicht erlaubt.

Die Wertbestimmung der einzelnen Fraktionen der Digitalispräparate bildet also eine pharmakologisch und pharmazeutisch wichtige Untersuchung, woraus man, im Zusammenhang mit anderen noch zu besprechenden Faktoren, die Kumulationsfähigkeit der Präparate nach bestimmter Zeit ungefähr ableiten kann.

Zusammenfassung.

Die Kumulation der reinen Glykosidfraktionen aus Digitalis purpurea und aus Digitalis lanata wurde nach 2 Tagen bestimmt. Es zeigte sich, daß in Bezug auf diese Eigenschaft die Glykoside sich folgenderweise reihen lassen: 1. Lanatoxin, 2. Digitoxin, 3. Lanadigin, 4. Bigitalin, 5., 6. und 7.: Gitalin, Lanatalin und Glykosid IV.

Wenn man den Gehalt der galenischen Präparate an diesen Glykosiden kennt, kann man berechnen, wieviel Glykosid aus jedem Präparat nach 2 Tagen noch anwesend sein muß.

Es ergibt sich nun, daß die so erhaltenen Zahlen nicht vollständig übereinstimmen mit den von van Esveld empirisch bestimmten Kumulationswerten; sie geben aber jedenfalls teilweise eine Erklärung für die verschieden starke Kumulation der unvorbehandelten Präparate.

V. Die Funktion der Saponine in den galenischen Präparaten der Digitalis purpureae.

Mit 1 Textabbildung.

Außer den Digitalisglykosiden (Digitoxin, Gitalin und Bigitalin), gibt es in den Digitalisprodukten noch viele nicht „digitalisartig" auf das Herz wirkende Substanzen.

Fourbon[1] fand in ätherischen Extrakten aus Blattpulver: Isovaleriansäure, Normalbuttersäure, Essigsäure, Propionsäure, Ameisensäure, während beim Kochen in die galenischen Produkte die, von Pyrame-Louis schon im Jahre 1845 gefundene, Antirrhinsäure entstand. Typisch für Purpurea ist sein hoher Mangangehalt[2] (0,94—8,12 mg pro 100 g Pulver). Unter den anwesenden anorganischen Salzen nimmt die Pottasche eine wichtige Stelle ein. Daneben gehen schleimartige Substanzen in die Galenika über, und es gibt typische Saponinen, welche leicht Schaum bilden, wenn man die Flüssigkeit schüttelt.

Digitalisspezialitäten (Digipuratum, Digalen usw.) wollen konzentrierte Lösungen der reinen Digitalisglykoside sein. Aus der großen Menge solcher Spezialitäten geht hervor, daß ein Bedürfnis an solchen Präparaten empfunden wird.

Es gibt aber auch Autoren, welche hierzu entschieden Stellung nehmen: „Weil ... wichtige wirkungssteigernde und gefahrmindernde Stoffe aus den Blättern, bei der Herstellung des Digipuratums (usw.) entfernt werden, so verdient das Digipuratum nicht, als gereinigten Digitalisextrakt, oder als eine Verbesserung der Folia Digitalis titrata bezeichnet zu werden" (Focke[3]).

Dieser Autor bemerkt folgendes: Wenn ein Infusum Digitalis purpurea in den Dünndarm eingeführt wird, so werden die wirksamen Bestandteile daraus ebenso schnell resorbiert, wie dies bei gleich starken reinen Präparaten der Fall ist. Das Infus aber, per os gegeben, und mit einem Gehalt an reinen Glykosiden von 0,26%, hat eine gleich starke Herzwirkung, als Digipuratum mit 0,4% reinen Glykosiden.

---

[1] Fourbon, Bull. des sciences pharmacol. 1918, Bd. 35, S. 689.
[2] Wester, Ber. d. dtsch. pharmazeut. Ges. 1920, Bd. 30, 6, S. 376.
[3] Focke, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1913, Bd. 110, S. 180.

Es muß also im Infus einen Stoff geben, welcher die Wirkung der Glykoside steigert (potentiiert), und welcher bei der Herstellung des Digipuratums wieder verschwunden ist.

Weiter behauptet Focke, im Anschluß an obiges, daß zwischen therapeutischen und toxischen Dosen bei den galenischen Produkten ein viel größerer Raum liegt, als bei den „reinen" Präparaten. Viele Kliniker haben nie das rohe Blattpulver oder die sonstigen galenischen Digitalisheilmittel entbehren wollen. Noch ein anderer deutscher Digitaliskenner räumt den „Beistoffen" einen wichtigen Platz in der Arznei ein. Nach Straub[1] zitiere ich: „Die Beistoffe der Galenika wirken in unbekannter Weise auf die Resorptionsgeschwindigkeiten derDigitalisprodukte ein usw."

Welche nun diese wichtigen Beistoffe sind, zeigen die folgenden Untersuchungen.

Kofler und Kaurek[2] haben an Fröschen und Kaninchen festgestellt, daß per os gegebenes Digitoxin und Strophanthin durch Zusatz von Saponinen giftiger werden. Diese Autoren fütterten ihre Versuchstiere mit dem Glykosid-Saponingemisch.

Sie sehen keine Wirkungssteigerung, wenn Digitoxin und Saponin zusammen in den Lymphsack des Frosches eingespritzt wird. Sie schließen denn auch aus ihren Versuchen, daß Saponin nur die Resorption aus dem Darmkanal erhöht.

Später ist auch von vielen anderen Stoffen die Steigerung der Resorption aus dem Magen-Darmkanal unter Einfluß von Saponinen festgestellt (Literatur s. bei Kofler und Fischer[3]).

Wenn Paranjpé[4] Digitalisglykoside in der Form eines Infuses (worin Saponine) in den Lymphsack des Frosches bringt, so werden diese Glykoside nicht schneller resorbiert, als wenn man die reinen Glykoside an dieser Stelle einspritzt. Er schließt daraus, daß die, sich im Infus befindenden Rohstoffe, keinen Einfluß auf die Resorption der wirksamen Bestandteile ausüben.

Jedoch ist die von Kofler und Kaurek festgestellte Weise, worauf Saponinen die Digitaliswirkung beeinflussen, keineswegs die einzige. Das geht schon aus dem untenstehenden Literaturverzeichnis hervor: Die Resorption der reinen Glykoside aus dem Darmkanal ist von Ogawa studiert worden[5]. Die in Chloroform löslichen Glykoside werden langsam resorbiert. Im Magen findet keine Resorption statt.

---

[1] Straub, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1926, Bd. 80, S. 72.
[2] Kofler und Kaurek, Ebenda 1925, Bd. 109, S. 362.
[3] Kofler und Fischer, Ebenda 1928, Bd. 130, S. 362.
[4] Paranjpé, Inaug.-Dissert. Heidelberg 1919.
[5] Ogawa, Dtsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 108, S. 554.

Die Latenzzeit, zwischen dem per os Aufnehmen von Digitalis und seiner Wirkung sei, seiner Meinung nach, dieser Tatsache zuzuschreiben.

Die Glykoside können einige Stunden den Verdauungsfermenten Widerstand leisten. Die Resorption von Digitalispräparaten ist weiter von Alday Redonnet[1] studiert worden. Er bestimmt an 400 Katzen wieviel Digitalis, per os gegeben, eine gleich starke Wirkung auf das Herz ausübt, als ein intravenös zugeführtes gleichartiges und gleichstarkes Digitalisprodukt. Er bestimmt mittels der Hatcher-de Lind van Wijngaarden-Methode die Stärke der verschiedenen Digitalispräparate, d. h. also die Wirkungsintensität der Glykoside nach intravenöser Infusion. Jetzt gibt er die verschiedenen Präparate per os, und bestimmt wieviel von der intravenös-tödlichen Dosis per os gegeben werden muß, um den Tod herbeizuführen. Es zeigte sich dabei, daß per os immer mehr gegeben werden muß, als intravenös; das Verhältnis zwischen tödlicher Dosis per os und intravenös ist bei den untersuchten Präparaten sehr verschieden. Die Digitalispräparate die „nur" Digitoxin enthalten, erreichen per os ungefähr die Hälfte der Wirkungskraft wie bei der Injektion.

Das Digifolin hat nur 29% der Wirkungskraft, die Tinkturen sowie verschiedene Spezialitäten (Digival, Digalen, Digipuratum usw.) 15 bis 20%, schließlich Pandigal und Verodigen nur 4%. Nach Redonnet sind es diese Werte, welche sich auch in der Klinik in Spanien bewährt haben.

Annau und Hergloz[2] spritzten Versuchstieren (Fröschen, Kaninchen) intravenös Saponine ein. Sie verwendeten Saponinum purissimus albiss. sec. Merck oder das Saponin aus Rad. saponaria. Dann fütterten sie die Tiere mit einer Kost, worin sie Strychnin, Kurare, Pikrotoxin, Morphin, Kokain oder Magnesiumchlorid gemischt hatten. Die Wirkung der Gifte war jetzt stark potentiert.

Sie schrieben dies nicht nur einer Resorptionsvermehrung, sondern auch einer die Zellpermeabilität erhöhenden Funktion der Saponine zu. Es kann ja hier nicht die Rede von einer direkten Wirkung der Saponinen auf die Darmmukosa sein. Die Durchlässigkeit der Zellen wird durch die Saponine erhöht, die Potentiierung der Alkaloidwirkung findet seine Erklärung in der besseren Eindringungsmöglichkeit derselben in die Zellen hinein. Diese Versuche wurden, soweit mir bekannt, nicht mit Digitalisglykosiden ausgeführt. Diese Lücke wird jedoch durch Ver-

[1] Alday Redonnet, Extraido de Archivos de Cardiologia et Hematologia 1927, Bd. 8, Nr. 12.

[2] Annau und Hergloz, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1927, Bd. 127, S. 92.

suche an isolierten Herzen ausgefüllt. Postojeff[1] stellte fest, daß eine Digitoxinlösung 1 : 100000 nicht imstande ist, seine isolierten Froschherzen an der Straubkanüle innerhalb 30 Minuten in systolischen Stillstand enden zu lassen. Wird ein Froschherz einer Digitoxinlösung 1 : 100000 + Quillajasaponin 1 : 100000 ausgesetzt, so tritt sofort systolischer Stillstand des Herzens ein. An sich vermag eine ähnliche Saponinlösung die Herzfunktion nicht zu ändern. Frommel[2] hat gezeigt, daß eine ähnliche Funktion den Saponinen aus den Digitalisblättern zukommt. Als ich diese Versuche auch machte konnte ich die Befunde bestätigen: Das Phänomen zeigt sich schon bei Digitoxinverdünnungen 1 : 150000, mit einer Saponin Purissimus-Merck-Konzentration von 1 : 20000. Für das Froschherz ist eine Saponinverdünnung 1 : 1500 erst toxisch.

Die schnell auftretende Vergiftung kann darauf beruhen, daß in der Zeiteinheit das Herz jetzt mehr Digitalisglykoside aufnehmen kann. Diese, zuerst von Annau und Hergloz gezeigte, durch Saponin verursachte, Permeabilitätserhöhung der äußersten (Herz)zelllagen für Heilmittel findet eine schöne experimentelle Grundlage in den Versuchen Pascuccis[3]. Dieser schloß gläserne Röhre mit einem künstlichen Halse von Cholesterin-Lezithin ab. In das Rohr brachte er Hämoglobin und stellte dieses unter Wasser.

Als er nun diesem, das Rohr umgebende Wasser, Saponine hinzufügte, wurde die Lipoidmembran durchlässig, und das Hämoglobin trat aus den Röhren in die umgebende Flüssigkeit.

Die Saponine haben also eine, die Durchlässigkeit der Lipoidmembran erhöhende Funktion. Ihr Einfluß auf den Wirkungsgrad von Heilmitteln muß meines Erachtens so erklärt werden, daß die Saponine die äußersten Zellagen besser durchlässig für dieselben machen. Diesen Einfluß kann man eine Sensibilisation der Zelle, dem Gift gegenüber, nennen. Darum nenne ich weiter auch diese Wirkung der Saponine auf die Digitalisglykosidwirkung, eine Sensibilisationserscheinung.

Trendelenburg konstatierte[4] bei der Wirkung von Digitalisglykosiden auf das isolierte Herz ein Latenzstadium, worin keine Wirkung auftritt, obwohl das Gift schon anwesend ist. Dieses Latenzstadium ist für jedes Glykosid in bestimmter Dosis ein konstantes. Am längsten dauert es bei Digitoxin. (Meiner Ansicht nach wegen der Digitoxin-

[1] Postojeff, Biochem. Zeitschr. 1911, Bd. 36, S. 335.

[2] Frommel, Arch. internat. de pharmaco-dyn. et de thérapie 1928, Bd. 34, S. 355.

[3] Pascucci, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 1905, Bd. 6, S. 534, zitiert aus Heffters Handb. d. exp. Pharmakol. 1924, Bd. 2, Hft. 2, S. 1499.

[4] Trendelenburg, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1909, Bd. 61, S. 256.

Eiweißbindung, welcher Komplex langsamer eintreten wird, als freies Glykosid). Die Alkoholwirkung auf das isolierte Herz ist von Krawkow[1] studiert worden. Bei der Vergiftung des Herzens durch Alkohol unterscheidet der Untersucher: 1. Eintrittphase. 2. Ersättigungsphase. 3. Austrittphase. Diese Phasen wurden von Garcawy Landau[2] auch bei der Digitaliswirkung gefunden. Fischer[3] nennt sie auf Grund anderer theoretischer Auffassungen: 1. Membranphase. 2. Fixationsphase. 3. Wirkungsphase.

Fügt man einer reinen Glykosidlösung Saponine zu, so fehlt die erste Phase und treten sofort Digitalissymptome auf (Frommel, s. oben). Durch unwirksame Saponine dringt eine größere Menge wirksamer Digitalisglykosiden pro Zeiteinheit in das Herz ein (Frommel). Diese erhöhte Aufnahme ist von großer Wichtigkeit für den schließlichen Tod (Stillstand) des isolierten Herzens.

Noch eine andere Wirkung der Saponine läßt sich am isolierten Froschherzen (Rana temporaria) feststellen.

Bekanntlich ist das isolierte Herz von Rana temporaria imstande, elektiv aus einer Digitoxinlösung das sehr verdünnte Glykosid zu entfernen, während aus Strophanthin-, Gitalin- oder Bigitalinlösungen keine solche Speicherung stattfindet (Straub[4]).

Das Verhältnis zwischen dieser Speicherung des Glykosids im isolierten Herzen, und der Kumulation beim intakten Tier ist nicht deutlich; das isolierte Säugetierherz speichert ja alle Glykoside, sowohl kumulierende wie nicht kumulierende (Weese[5]). Durch Erwärmen des Temporariaherzens, oder durch Hinzufügung von Saponin, gelang es Issekutz[6], Strophanthinlösungen (Digitalinlösungen) nahezu glykosidfrei zu machen: Das Herz speicherte in diesen Fällen alles anwesende Glykosid.

Weizsäcker[7] arbeitete mit dem speicherungsunfähigen Digitalin. Wenn er das verunreinigte Digitalin untersuchte, und zwar in der Form eines Präparates, welches den galenischen Produkten ganz nahe stand, so wurde das Digitalin speicherungsfähig.

Das Digitalin war im zweiten Falle, wie Weizsäcker sagt, mit Saponine gemischt. Auch Grünwald[8] hat diese Erscheinung bei anderen speicherungsunfähigen Glykosiden bemerkt.

Wie steht es nun um das Herz in situ?

[1] Krawkow, Russki Wratsch 1911, Nr. 41.
[2] Garcawy Landau, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1925, Bd. 108, S. 207.
[3] Fischer, Ebenda 1928, Bd. 130, S. 111.
[4] Straub, Biochem. Zeitschr. 1910, Bd. 28, S. 392.
[5] Weese, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1928, Bd. 228, S. 135.
[6] Issekutz, Ebenda 1915, Bd. 78, S. 155.
[7] Weizsäcker, Ebenda 1913, Bd. 72, S. 282.
[8] Grünwald, Ebenda 1912, Bd. 68, S. 231.

Ist ein Digitalismittel nach Zusatz von Saponinen toxischer geworden? Hierüber bestehen keine genauen Angaben. In meinen Versuchen über diese Frage, verwendete ich das Saponinum purissimus „Merck" (Sapoalbin). Die hämolysierende Grenzdosis liegt bei: 1:150000.

Mit der Methode Hatcher-de Lind van Wijngaarden versuchte ich eine tödliche Dosis des Saponins bei der Katze festzustellen. Eine Lösung 1:1000 des Saponins in NaCl 0,9% wurde langsam (1 ccm pro Minute) intravenös injiziert. Nachdem der Katze (3,5 kg) 150 ccm in $2^1/_2$ Stunden eingespritzt worden war, also 150 mg Saponin, hörte ich mit dem Einlauf auf.

Am Herzen des Tieres hatte ich keine wichtigen Symptome konstatiert: Es klopfte normal weiter, die Atmung war schnell.

Ich tötete das Tier; bei der Sektion ergab sich eine kräftige Hämolyse des Blutes und Hämoglobinurie. Organveränderungen fanden nicht statt. Die kaum festzustellende tödliche Dosis des Saponins ist also bei der Katze größer als 42,8 mg pro Kilogramm Tier.

Es versteht sich, daß bei Tieren, deren Erythrocyten einen höheren Kaliumgehalt besitzen (Mensch), die Giftigkeit des Saponins, via die Hämolyse, größer ist.

In meinen Versuchen habe ich nie eine größere Saponinkonzentration verwendet als: 1:20000. Die Menge Digitalislösung war in den Wertbestimmungen nie größer als 55 ccm, worin also höchstens etwa $\frac{55000}{20000}$ mg = 2,75 mg Saponin anwesend war, das ist etwa 1—1,375 mg pro Kilogramm Tier.

In den entscheidenden Kumulationsversuchen erhielten die Tiere Saponin 1:20000 und 1:200000, also pro Kilogramm Tier bzw. etwa: 0,5—0,6875 mg und 0,05—0,06875 mg Saponin pro Kilogramm Katze. Das sind sicher für das Versuchstier atoxische Mengen, welche im intakten Tier keine pharmakologischen Symptome verursachen.

I. Wertbestimmungen von Glykosiden plus Saponine in Konzentrationen, welche eine Erhöhung der akut tödlichen Wirksamkeit der Präparate verursachen.

a) Wertbestimmung einer g-Strophanthinlösung 1:200000, worin gelöst Saponinum purissimus „Merck" 1:20000.

(D.l. [nach van Esveld] der reinen Strophanthinlösung 1:200000 = 22,54 ccm pro Kilogramm Katze.)

Vier Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 22,8 ccm, 18,25 ccm, 17,8 ccm, 17,3 ccm. Mittlerer Fehler: 9,8%. Ausgeschaltet Katze Nr. 1. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,8 ccm.

Die Wirksamkeit des Strophanthins hatte also pro Kilogramm Katze 22,54 ccm—17,8 ccm = 4,74 ccm, oder $\frac{4,74}{0,2254}\% = 21\%$ zugenommen.

b) Wertbestimmung einer g-Strophanthinlösung 1:200000, worin gelöst Saponinum purissimus „Merck" 1:33000.

Drei Katzen. D. l. pro Kilogramm Katze bzw.: 19,8 ccm, 21,5 ccm, 21,1 ccm. Mittlerer Fehler: 4,7%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 20,8 ccm. Die Wirksamkeit des Strophanthins hatte also pro Kilogramm Katze: 22,54 ccm—20,8 ccm = 1,74 ccm oder $\frac{1,74}{0,2254}\%$ = 7,7% zugenommen.

c) Wertbestimmung von Liquor Digitalis purpurea (Digisol) (Ed. V. Ned. Pharm.) 1:10, worin gelöst Saponinum purissimus „Merck" in Konzentrationen, bzw. 1:25000, 1:50000, 1:100000, 1:150000.

(D.l. der Liquorlösung: 22,93 ccm [nach van Esveld].)

Vier Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 15,7 ccm, 12,4 ccm, 13,4 ccm, 15,9 ccm. Mittlerer Fehler: 10,1%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 14,35 ccm. Die Wirksamkeit des Liquors hatte also pro Kilogramm Katze durchschnittlich 22,93 ccm—14,35 ccm = 8,58 ccm, oder $\frac{8,58}{0,2293}\% = 37,4\%$ zugenommen.

Es zeigt sich also eine deutliche Vermehrung der Wirksamkeit durch Hinzufügung von Saponinen in nicht toxischen Mengen. Es fragt sich jetzt, ob die Digitsaponine in den galenischen Produkten, einen Einfluß auf die akute tödliche Wirksamkeit der anwesenden Digitalisglykosiden ausüben.

Zur Lösung dieser Frage stellte ich Wertbestimmungen mit saponinfreien Präparaten an, wovon die tödliche Dosis pro Kilogramm Katze genau bestimmt worden war.

IIa. Wertbestimmung eines saponinarmen Infusum Digitalis purpureae 0,5/100.

(D.l. des Rohproduktes: 16,2 ccm [III. Mitteilung].)

200 ccm Infus wurden während ½ Stunde mit 1 g Cholesterin ausgeschüttelt. Das Cholesterin wurde abfiltriert. Der so vorbehandelte Digitalisextrakt schäumte jedoch noch schwach und hämolysierte noch, zwar in hoher Konzentration. Es kann also nur saponinarm genannt werden. Es wird mittels NaCl isotonisch gemacht.

Vier Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 17,9 ccm, 22 ccm, 18 ccm, 16,9 ccm. Mittlerer Fehler: 8,8%. Ausgeschaltet Katze Nr. 2. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,6 ccm. Wertverlust: 17,6 ccm—16,2 ccm = 1,4 ccm oder $\frac{1,4}{0,162}\% = 8,6\%$. Das ist nur wenig mehr als der mittlere Fehler (6,67%); diese Bestimmung läßt also keinen sicheren Schluß zu.

IIb. Wertbestimmung einer saponinfreien Tinktura Digitalis purpureae 1 : 10 (Alk. absol.).

(D.l. pro Kilogramm Katze des unvorbehandelten Rohproduktes; Verdünnung 1 : 15 = 20,2 ccm [III. Mitteilung].)

1 g Cholesterin wird gelöst in 20 ccm Äther, und mit 60 ccm Tinktur gemischt. Alkohol und Äther werden jetzt in vacuo abdestilliert, unter fortwährendem Beitropfen von Wasser. (Über die Folgen dieses Verfahrens für die Digitalisglykoside, s. III. Mitteilung.) Jetzt wird abfiltriert und alles sorgfältig mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat schäumt oder hämolysiert nicht mehr, ist also saponinfrei, und hat ein Volum von 600 ccm; die Tinktur ist jetzt zehnfach verdünnt, und wird mit NaCl isotonisch gemacht.

Fünf Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 16,4 ccm, 10,6 ccm, 13,1 ccm, 12,8 ccm, 14,9 ccm. Mittlerer Fehler: 12,4%. Ausgeschlossen Katze Nr. 1 und 2. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 13,6 ccm, stimmt überein mit $13,6 \cdot \frac{15}{10} = 20,4$ ccm. Tinktur 1 : 15.

Es ist also kein Wertverlust durch Saponinentfernung nachweisbar.

IIc. Wertbestimmung einer Tinktura Digitalis purpureae, hergestellt mit absolutem Alkohol, dem eine Menge Saponin hinzugefügt wurde, welche ich bekam aus 60 ccm ähnlicher Tinktur, mittels Cholesterin und Auskristallisierung in Chloroform.

Verdünnung 1 : 15.

Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 19,4 ccm, 24,2 ccm, 20,6 ccm. Mittlerer Fehler: 8,7%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 21,4 ccm. (Durchschnittlicher Wert der Tinktur: 20,2 ccm.) Es ergibt sich also, daß dieser Zusatz von Saponinen, die akute Giftigkeit des Präparates nicht erhöht.

II d. Wertbestimmung eines saponinfreien Liquor Digitalis purpureae (Digisol).

(D.l. des Liquors 1 : 10 pro Kilogramm Katze: 22,93 ccm.)

Der Liquor wurde in Vacuo mit fein verteiltem Cholesterin gekocht, bis der anwesende Alkohol (12%) übergegangen war. Zur Wertbestimmung wurde eine Verdünnung des saponinfreien Liquors von 1 : 8 verwendet.

Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 15,6 ccm, 17 ccm, 18,6 ccm. Mittlerer Fehler 6,5%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,4 ccm, stimmt überein mit $17{,}4 \cdot \frac{10}{8} = 21{,}75$ ccm. Liquor 1 : 10. Durch Saponinenentziehung wird hier also kein nachweisbarer Wertverlust der ursprünglichen Flüssigkeit verursacht.

Wie man sieht, haben die Saponine in den galenischen Präparaten keinen Einfluß auf ihre akute Wirksamkeit, wenn man diese Wirksamkeit mit dem Hatcher-de Lind van Wijngaardenschen Verfahren bestimmt, d. h. mittels intravenöser Injektion der Digitalispräparate.

Es lag nahe zu denken, daß diese Tatsache nur dadurch verursacht wird, daß die Saponinkonzentration in den galenischen Produkten eine zu geringe ist, um die akute Toxizität des Präparates zu erhöhen. Darum habe ich nach Grenzdosen gesucht, wobei die Saponinwirkung nicht mehr merkbar ist, wenn man die tödliche Dosis des Produktes, vor und nach Saponinzugabe untersucht.

III. Feststellung der Grenzkonzentrationen von Saponinum purissimus „Merck" gelöst in Digitalisglykosidlösungen, worin die Saponine keinen Einfluß auf die akute tödliche Wirksamkeit der Glykoside ausüben.

a) Wertbestimmung von Strophanthin 1 : 200000 + Saponin 1 : 100000.

(D.l. der Strophanthinlösung 1 : 200000 pro Kilogramm Katze: 22,54 ccm.)

Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 24,2 ccm, 21,6 ccm, 22,8 ccm. Mittlerer Fehler: 4%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 22,9 ccm.

b) Wertbestimmung von Strophanthinlösung 1 : 200000 + Saponin 1 : 50000.

Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 25,7 ccm, 22,2 ccm, 28,1 ccm. Mittlerer Fehler: 8,3%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 25,3 ccm.

In der auf S. 88 publizierten Wertbestimmung von Strophanthin + Saponin 1 : 33000 (1 : 20000), tritt die Erhöhung der Giftigkeit des Strophanthins durch die Saponine ein.

Wir sehen also, daß Saponine in einer Konzentration 1 : 50000 nicht, in einer Konzentration 1 : 20000 sehr wohl imstande sind, die akute Giftigkeit des Präparates zu erhöhen.

c) Wertbestimmung einer Gitalin-Digitoxinlösung aus Digitalis purpureae.

(Gitalin : Digitoxin = 19 : 1.)

25 g Purpureapulver wurden infundiert mit 200 ccm Wasser. Das $12^1/_2$%ige Infus wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und der Chloroformextrakt in 1300 ccm Wasser NaCl isotonisch geführt.

Sechs Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 22,2 ccm, 17,9 ccm, 17,3 ccm, 17 ccm, 15,4 ccm, 15 ccm. Mittlerer Fehler: 6,1%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,5 ccm.

d) Wertbestimmung derselben Gitalin-Digitoxinlösung, worin gelöst: Saponin 1 : 200000.

Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 18 ccm, 19,1 ccm, 17,4 ccm. Mittlerer Fehler: 3,5%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 18,2 ccm.

Hinzufügung von Saponin 1 : 200000 ändert also die D.l. einer Purpurea-Glykosidlösung nicht.

e) Wertbestimmung von Liquor Digitalis purpureae (Digisol) + Saponin 1 : 200000.

(D.l. der Liquor 1 : 10 = 22,93 ccm.)

Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 22,4 ccm, 20 ccm, 26,1 ccm. Mittlerer Fehler: 9,3%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 22,8 ccm.

Es zeigt sich keine Toxizitätsvermehrung, im Gegensatz zu höheren Konzentrationen (s. oben S. 88).

Hieraus geht also hervor, daß Saponine in niedrigen Konzentrationen, keinen Einfluß auf die akut-tödliche Wirksamkeit der anwesenden Glykoside ausüben. Offenbar ist auch in den untersuchten galenischen Präparaten dazu die Saponinkonzentration zu niedrig.

Denn bei reinem Strophanthin liegt die, die Toxizität nicht erhöhende Saponingrenzkonzentration bei 1 : 50000. Bei dem schon digitsaponinhaltigen Liquor ist diese unwirksame Grenzkonzentration viel geringer. Das erklärt sich wohl aus der Tatsache, daß den schon anwesenden

Saponinen nur wenige Saponinmengen hinzugefügt zu werden brauchen, um zusammen eine toxizitätserhöhende Wirkung auszuüben.

In höheren Saponinkonzentrationen jedoch, werden die Präparate durch Saponinzusatz giftiger, was sich auf eine Sensibilisierung der Herzzellen, den Glykosiden gegenüber, gründet.

Aber aus folgendem wird sich ergeben, daß die Saponine, in den Konzentrationen wie sie in den galenischen Präparaten vorliegen, eine bestimmte und wichtige Wirkung ausüben. Nicht in Bezug auf die akut-tödliche Wirkung, sondern auf die Kumulation der Glykoside.

IVa. Kumulation einer Strophanthinlösung 1 : 200000 nach 1 Tage.

(D.l. pro Kilogramm Katze: 22,54 ccm.)

Fünf Katzen bekommen in etwa 20 Minuten einen intravenösen Einlauf von 50% der D.l.

24 Stunden nach dem ersten Einlauf wird bei diesen Katzen mit ähnlicher Einlaufsgeschwindigkeit und mit demselben Präparat, die tödliche Dosis bestimmt. Diese war bzw.: 20,93 ccm, 17,9 ccm, 22,79 ccm, 18,1 ccm, 16,5 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 19,24 ccm. Daraus schließt man auf eine Kumulation des Strophanthins nach einem Tage von: 22,54 ccm—19,24 ccm = 3,3 ccm, oder $\frac{3{,}3}{0{,}2254}$ % = 14,6% der D.l.

IVb. Kumulation einer g-Strophanthinlösung 1 : 200000 nach 2 Tagen.

(D.l. pro Kilogramm Katze: 22,54 ccm.)

Drei Katzen bekommen in etwa 20 Minuten einen intravenösen Einlauf von 50% der D.l.

48 Stunden nach dem ersten Einlauf, wird bei diesen Katzen mit ähnlicher Einlaufsgeschwindigkeit und mit demselben Präparat, die tödliche Dosis bestimmt. Diese war bzw.: 22,8 ccm, 22,3 ccm, 21,4 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 22,17 ccm.

Daraus schließt man auf eine Kumulation des Strophanthins nach 2 Tagen von: 22,54 ccm—22,17 ccm = 0,37 ccm, oder $\frac{0{,}37}{0{,}2254}$ % = 1,6% der D.l. (Also 3,2% der eingespritzten Dosis.)

IVc. Kumulation einer g-Strophanthinlösung 1 : 200000 + Saponinum purissimus „Merck" 1 : 50000 nach 2 Tagen.

(D.l. pro Kilogramm Katze ist dieselbe als die der saponinfreien Strophanthinlösung = 22,54 ccm pro Kilogramm Katze.)

Sechs Katzen. Die fünfte Katze starb 12 Stunden nach der Injektion. Sektion ohne Befund. Nach 2 Tagen, D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 18,2 ccm, 19,4 ccm, 19,2 ccm, 13,4 ccm, 15,3 ccm. Durchschnitt-

licher Wert pro Kilogramm Katze: 17,1 ccm. Nach 2 Tagen ist also von der halben tödlichen Dosis zurückgeblieben: 22,54 ccm—17,1 ccm = 5,44 ccm. Das ist also: $\frac{5,44}{0,2254}\% = 24,1\%$ der D.l. (= 48,2% der injizierten Dosis). Wir sehen wie eine g-Strophanthinlösung, welche nach 2 Tagen nicht kumuliert, durch Saponinzusatz in eine ziemlich stark kumulierende Substanz geändert wird.

Das Saponin war in einer Konzentration gegeben, worin es gar keinen Einfluß auf die akut-tödliche Dosis des Produktes ausübt.

Zur Untersuchung ob die in den galenischen Präparaten anwesenden Digitsaponine auf die Kumulation des Produktes einen ähnlichen Einfluß haben, sind mit digitsaponinfreien galenischen Digitalis-purpureapräparaten Versuche angestellt worden.

Va. Kumulation eines saponinfreien Liquor Digitalis purpureae. (Ed. V Ned. Pharm.) 1 : 10.

(D.l. pro Kilogramm Katze: 22,93 ccm.)

1. Nach 24 Stunden.

Drei Katzen. D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 17,5 ccm, 15,2 ccm, 16,1 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Katze: 16,3 ccm.

Nach 24 Stunden ist also von der halben tödlichen Dosis zurückgeblieben: 22,93 ccm — 16,3 ccm = 6,63 ccm. Das ist also $\frac{6,63}{0,2293}\%$ = 28,9% der D.l.

2. Nach 48 Stunden.

Drei Katzen. D. l. pro Kilogramm Katze bzw.: 20,5 ccm, 20,8 ccm, 21,3 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 20,9 ccm.

Nach 48 Stunden ist also von der halben tödlichen Dosis zurückgeblieben: 22,93 ccm—20,9 ccm = 2,03 ccm. Das ist also $\frac{2,03}{0,2293}\% = 8,8\%$ der D.l.

van Esveld hat diese Werte bestimmt für den unbehandelten saponinhaltigen Liquor purpureae.

Er fand nach 24 Stunden 26,8% und nach 48 Stunden 26,2% zurück. Der Verfasser lenkt wieder einmal die Aufmerksamkeit auf die Erscheinung, daß man bei fast allen Digitalisrohprodukten nach 48 Stunden etwa gleich große Mengen im Tier zurückfindet als nach 24 Stunden.

In einer früheren Mitteilung habe ich die Kumulationsfähigkeit des Liquors nach 2 Tagen auf 5,7% der D.l. berechnet. Dieser Wert stimmt also befriedigend überein mit der hier empirisch von mir nach 2 Tagen gefundenen Kumulation, von dem saponinfreien Liquor.

Hieraus geht hervor, daß auch in Bezug auf die Kumulation des galenischen Produktes, keine Potentierung der Glykoside untereinander besteht. Wenn ich also die Kumulationswerte der einzelnen Glykosidfraktionen in einer früheren Mitteilung addiert habe, so ist dabei sicher kein Fehler entstanden, wodurch die Resultate sich trüben könnten.

Vb. Kumulation eines Liquor Digitalis purpureae, woran zugefügt Saponinum purissimus „Merck" 1 : 200000.

(D.l. pro Kilogramm Katze: 22,93 ccm; dieselbe als die des saponinfreien Liquors.)

Vier Katzen. Die vierte Katze starb 6 Stunden nach der ersten Infusion. Sektion: Ohne Befund. Nach 48 Stunden war die D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 14,1 ccm, 15,7 ccm, 15,4 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 15,1 ccm.

Es war also zurückgeblieben: 22,93 ccm—15,1 ccm = 7,83 ccm, oder $\frac{7{,}83}{0{,}2293}\% = 34{,}1\%$ der D.l.; also noch etwas höher als der Kumulationswert des unvorbehandelten Liquors (26,2%).

VIa. Kumulation einer saponinfreien Tinktura Digitalis purpureae (absoluter Alkohol) 1 : 10.

Verdünnung 1 : 15 (D.l. pro Kilogramm Katze: 20,2 ccm.)

Sechs Katzen. Nach 2 Tagen wurde die tödliche Dosis einer Strophanthinlösung 1 : 200000 (D.l. des Strophanthins pro Kilogramm für die unvorbehandelte Katze: 22,54 ccm) an vier Katzen bestimmt.

Die D.l. des Strophanthins war bzw. pro Kilogramm Katze: 22,5 ccm 22 ccm, 30,4 ccm, 24,2 ccm. Mit van Esveld schalte ich bei der Berechnung aus: Katze Nr. 3, weil das Tier mehr als 25% vom durchschnittlichen Wert abweicht. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 22,9 ccm Strophanthinlösung.

Es ist also jetzt keine Kumulation nachweisbar. Als Kontrolle habe ich an zwei Katzen die D.l. der übriggebliebenen und im Kühlraum aufbewahrten Tinktur bestimmt. Die D.l. der Tinktur war jetzt pro Kilogramm Katze bzw.: 25,4 ccm, 22,9 ccm; durchschnittlich 24,15 ccm. Auch hier ist keine Kumulation nachweisbar, ja die mit saponinfreier Tinktur vorbehandelten Katzen ertragen sogar nach 2 Tagen eine höhere Menge Digitalis pro Kilogramm Körpergewicht. Ebenso wie bei der Kumulationsbestimmung der Bigitalinfraktionen, weise ich hier wieder auf die Tatsache hin, daß es scheint, daß die Katzen, der Digitalis gegenüber, durch die vorherige Injektion mehr resistent geworden sind.

VIb. Kumulation einer Tinktura Digitalis purpureae 1:10 (absoluter Alkohol) mit zugefügten Digitalissaponinen (siehe S. 89).

(D.l. der Verdünnung 1:15: 20,2 ccm.)

Sechs Katzen. Katze Nr. 5 starb an Pneumonie etwa 36 Stunden nach der ersten Infusion.

48 Stunden nach der Injektion der halben tödlichen Dosis Tinktur, wurde an drei Katzen eine Wertbestimmung mit einer g-Strophanthinlösung 1:200000 (D.l. 22,54 ccm pro Kilogramm Katze) gemacht.

Die D.l. der Strophanthinlösung war jetzt pro Kilogramm Katze bzw.: 14,4 ccm, 18,5 ccm, 13,7 ccm. Durchschnittlicher Wert: 15,3 ccm. In Prozenten der D.l. ausgedrückt, war also in den Katzen $\frac{22{,}54-15{,}3}{0{,}2254}\,\%$ $=32{,}1\%$ der D.l. zurückgeblieben. An den zwei übrig gebliebenen Katzen wurde eine Wertbestimmung mit der ursprünglichen Tinktur gemacht. D.l. der Tinktur war jetzt bzw.: 15,4 ccm, 14,8 ccm. Durchschnittlicher Wert: 15,1 ccm. Zurückgeblieben also $\frac{20{,}2-15{,}1}{0{,}202}\,\% = 25{,}2\%$.

Berechnet man die Menge Tinktur, welche nach 2 Tagen im Körper noch anwesend ist durchschnittlich auf alle fünf Katzen, so ergibt sich, daß die saponinreiche Tinktur 29,8% kumuliert.

Durch die anwesenden Digitsaponine ist also ein gar nicht kumulierendes Digitalisprodukt in ein stark kumulierendes Präparat umgeändert. Aus diesen Versuchen geht unzweideutig hervor, daß den Saponinen, auch in den galenischen Präparaten, eine wichtige Funktion zukommt, nämlich diese, daß durch sie die Kumulation erhöht wird.

In der Abb. 1 finden sich die Kumulationswerte für die untersuchten galenischen Präparate, wie sie von van Esveld festgestellt worden sind und auch die Kumu-

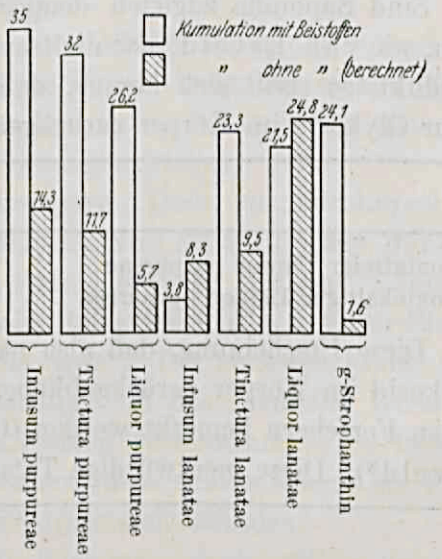


Abb. 1. Graphische Darstellung der Kumulationswerte nach 2 Tagen von galenischen Präparaten von Digitalis purpureae und von Digitalis lanata, sowie von g-Strophanthin. Die Kumulationswerte der galenischen Präparate, wie diese von van Esveld bestimmt wurden, sind als weiße Säulen angegeben, die Summe der Kumulationswerte der anwesenden reinen Glykoside sind als schraffierte Säule daneben gesetzt. Die weiße Säule beim g-Strophanthin bezieht sich auf eine Lösung welcher Saponin zugesetzt worden ist, die schraffierte Säule vertritt die reine Strophanthinlösung.

lationswerte, welche ich für die Summe der darin enthaltenen reinen Glykosiden gefunden habe. Für die Differenzen zwischen den beiden Gruppen von Zahlen kann man sicher die Beistoffe der galenischen Präparate verantwortlich machen.

Von diesen Beistoffen kennen wir jetzt die Bedeutung der Saponine in den Purpureapräparaten.

Aus den oben beschriebenen Versuchen geht noch eine andere merkwürdige Tatsache hervor. Betrachtet man den Verlauf der Ausscheidung von Liquor Digitalis purpureae aus dem tierischen Organismus, so ergibt sich, daß, wenn Saponine nicht anwesend sind, die Kumulation ausschließlich von dem Gehalt an reinen Glykosiden abhängt. Dieser Glykosidgehalt würde nach 2 Tagen eine Kumulation von 5,7% der D.l. herbeiführen. Empirisch bestimme ich eine Kumulation des entsaponinten Liquors von 8,8%. Diese Zahlen stimmen befriedigend miteinander überein. Nach einem Tage gibt es im Körper noch 28,9% an saponinfreiem Liquor.

Wir sehen also, daß ein saponinfreies galenisches Präparat gleichmäßig wieder aus dem Körper entfernt wird, wodurch nach 2 Tagen eine bedeutend geringere Menge Glykosid im Körper nachgewiesen wird, als nach einem Tage.

Sind Saponine zugleich dem Präparat zugesetzt, oder untersucht man, wie van Esveld, das digitsaponinhaltige unbehandelte galenische Produkt, so stellt sich heraus, daß am 2. Tage ebensoviel oder sogar mehr Glykosid im Körper zurückgeblieben ist als nach einem Tage.

	Nach 1 Tage noch im Körper	Nach 2 Tagen noch im Körper
Saponinfreier Liquor purpureae . . .	28,9%	8,8%
Saponinhaltiger Liquor purpureae . .	26,8%	26,2% (34,1%)

Diese Erscheinung, daß also nach 2 Tagen ebensoviel (oder mehr) Glykosid im Körper zurückgeblieben ist als nach einem Tage, ist von vielen Forschern bemerkt worden (Gold[1], Hatcher und Haag[2], van Esveld[3]). Diese merkwürdige Tatsache tritt bei fast allen galenischen

	Nach 1 Tage noch im Körper	Nach 2 Tagen noch im Körper
g-Strophanthin 1 : 200000	14,6%	1,6%
g-Strophanthin 1 : 200000 + Saponin purissimus „Merck" 1 : 50000 . . .	—	24,1%

[1] Gold, Arch. intern. Med. 1923, Bd. 32, S. 779.

[2] Hatcher und Haag, Journ. of the Americ. pharmac. assoc. 1929, Bd. 18, S. 670.

[3] van Esveld, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1931, Bd. 160, S. 375.

Präparaten auf, während es auch bei reinen Glykosiden gefunden ist (Gold). Ich habe Strophanthinlösungen in dieser Hinsicht untersucht.

Auch hier ist nach 2 Tagen eine deutlich höhere Kumulation des Strophanthins wahrzunehmen, als nach einem Tage, wenigstens, wenn in letzterem Falle keine Saponine mitgegeben wurden.

Hier ist also gewiß eine Saponinfunktion nachgewiesen.

Zusammenfassend läßt sich über die Saponinfunktion in den galenischen Präparaten sagen, daß die Saponine die Kumulation des Rohproduktes erhöhen, ohne die tödliche Dosis des Präparates zu beeinflussen, und daß sie eine Rolle spielen bei der Erscheinung, daß im Körper, nach intravenöser Digitaliszufuhr nach zwei Tagen, die gleiche Menge Glykosid zurückgefunden wird, als nach einem Tage.

Die Tatsache, daß diese Saponinkonzentration keinen Einfluß auf die tödliche Dosis ausübt, deutet darauf hin, daß in das Substrat, welches für den Tod verantwortlich ist, keine größere Menge Glykosid eingedrungen ist. Daß dennoch die Kumulation geändert wird, bedeutet, daß in irgendeinem anderen Substrat wohl mehr Glykosid gespeichert wird, und daß dieses Glykosid für die Kumulation, also für die Herzwirkung nicht verloren gegangen ist. Für die akut-tödliche Herzwirkung hat dieses Glykosid keine Bedeutung.

Diese Tatsachen zwingen uns also zu der Annahme, daß es zwei Substrate gibt: Eines für die akut-tödliche Herzwirkung, das andere für die Kumulation. (Hierdurch wird nicht bestritten, daß auch das erste Substrat sich an der Kumulation mitbeteiligen kann.)

Die Erscheinung, daß bei Liquor purp., Tinct. lan. und Liquor lan. am 2. Tage dieselbe Kumulation gefunden wird als am 1. Tage, mit einer Methode, welche sich nur auf das erste („tödliche Wirkung") Substrat bezieht, wird dann so zu erklären sein, daß (vielleicht u. a. unter Einfluß der Saponine) in der Zeit vom 1. bis zum 2. Tag ebensoviel oder mehr Glykosid aus dem „Kumulationssubstrat" in das „tödliche Wirkungssubstrat" übertritt, als aus diesem letzten verschwindet. Bei Infusum purpurea und Tinktura purpurea dauert diese Phase länger als 1 Tag.

Es fragt sich nun, wo diese Substrate sich befinden.

Das erste, für die akut-tödliche Wirkung verantwortliche Substrat, muß natürlich im Herzen liegen.

Das zweite — die Kumulation verursachende — Substrat, kann entweder intrakardial oder extrakardial gelegen sein.

Cloëtta ist der einzige Autor, welcher sich für einen extrakardialen Mechanismus ausgesprochen hat. Seine Auffassung, soweit es die Teilnahme der Genine betrifft, wurde von Weese angefochten, jedoch nicht

mit Sicherheit ausgeschlossen. Die Möglichkeit einer Mitbeteiligung der extrakardialen Gewebe bei der Kumulation, braucht also nicht ausgeschlossen zu werden, obschon sie bis jetzt nicht nachgewiesen ist.

Auch die Möglichkeit, daß beide Substrate sich im Herzen befinden, kann nicht ohne weiteres verworfen werden.

Das würde heißen, daß die akut tödliche Wirkung der Digitalis einen anderen Teil des Herzens angreifen würde, als die kumulierende Wirkung.

Es ist dies eine außerordentlich wichtige Frage, weil man dann weiter fragen könnte: welchen Teil des Herzens greift die therapeutische Wirkung an, dasselbe Substrat, welches für die akut-tödliche Digitaliswirkung verantwortlich ist, oder dasjenige, welches nur für die Kumulation wichtig ist. Im ersten Falle würden die Saponine der galenischen Präparate keine Bedeutung haben für die Speicherung der Glykoside im „therapeutischen Substrat", im zweiten Falle aber wohl.

Abgesehen von diesen sehr wichtigen theoretischen Fragen, läßt sich doch mit Sicherheit sagen, daß die Saponine, in der Menge wie sie in den galenischen Produkten vorkommen, die akute Giftigkeit der Glykoside nicht erhöhen, dagegen führen sie zu einer stärkeren Kumulation, d. h.: zu einer längeren Nachwirkung.

Diese längere Nachwirkung bedeutet einen längeren, also einen besseren therapeutischen Effekt.

Betrachtet man nun die einzelnen Purpureapräparate und nimmt man auch das reine Glykosid g-Strophanthin hinzu, so ergibt sich folgendes:

Das Maß worin die Kumulation durch die Saponine erhöht wird, beträgt beim Infus 2,4, bei der Tinktur 2,7, beim Liquor 4,6, beim reinen g-Strophanthin 15.

Der Saponingehalt, auf gleichen Digitaliswert berechnet, verhält sich bei Infus, Tinktur und Liquor wie folgt 1,5 : 2 : 1.

Beim g-Strophanthin ist ein anderes Saponin verwendet, auf Grund der hämolytischen Zahlen kann man aber sagen, daß die Menge, dem g-Strophanthin zugesetzten Saponine von derselben Größenordnung ist. Es ist also deutlich, daß der große Unterschied in dem Maß, worin die Kumulation erhöht wird (2,4, 2,7, 4,6 und 15) nicht bloß von den anwesenden Saponinen abhängig sein kann.

Eine saponinfrei gemachte Tinktura purpureae (Abs. Alk.) ist nach 2 Tagen nicht mehr im Körper nachweisbar, obwohl ihr Digitoxingehalt ein erheblicher ist. Hier muß wohl von einer Hemmung der Kumulation gesprochen werden, welche hervortritt, wenn die Saponine entfernt worden sind.

Es liegt also nahe zu vermuten, daß noch andere Beistoffe die Kumulation mit beeinflussen. Diese Beistoffe finden sich in den galenischen Präparaten, nicht in der Strophanthin-Saponinlösung. Es ist klar, daß es hier also kumulationshemmende Substanzen betrifft. Versuche darüber werden in der folgenden Mitteilung veröffentlicht werden, es kann jetzt schon gesagt werden, daß hier die schleimartigen Substanzen aus dem Blattpulver eine Rolle spielen.

Die Verhältnisse bei den Präparaten aus Digitalis lanata liegen etwas anders. Der Liquor lanata hämolysiert nicht, ist also saponinfrei. Hier stimmen denn auch die Zahlen von van Esveld mit den meinigen nahezu überein. Wenn man dem kleinen Unterschied eine Bedeutung zumessen wollte, so würde man hier auf eine geringe Hemmung (wahrscheinlich durch schleimartige Substanzen) schließen. Auch bei dem Infus liegen die Zahlen nicht weit auseinander. Auch hier entsteht durch die gesamten Beistoffe eine geringe Hemmung der Kumulation. Schleimartige Substanzen sind sicher anwesend, vielleicht ist das Glykosid IV imstande, als Saponin die Kumulation zu verstärken. Der Einfluß des Glykosides IV ist dann aber geringer als die hemmende Wirkung. Bei der Tinktur finden wir wieder eine Verstärkung der Kumulation durch die gesamten Beistoffe.

Es wurde also festgestellt, daß bei der gefolgten Methodik den Beistoffen eine wichtige Rolle in Bezug auf die Kumulation zukommt. Es fragt sich jetzt, ob auch bei der Anwendungsweise in der Klinik dieser Einfluß zur Geltung kommt. Es wurde schon bemerkt, daß es manche erfahrenen Kliniker gibt, welche die galenischen Digitalisprodukte (Blattpulver) immer den gereinigten Glykosidlösungen vorziehen. Offenbar haben diese Kliniker empirisch empfunden, daß den Beistoffen eine wichtige Bedeutung in der Therapie gebührt.

Das kann aber nur der Fall sein, wenn das per os gegebene Saponin vom Darm resorbiert wird.

Über die Resorption der Digitalissaponine sind mir keine Untersuchungen bekannt.

Nach Kobert[1] ist die Resorption der Saponine aus dem Magen-Darmkanal im allgemeinen nur eine partielle. Eine Resorption findet statt: Erstens weil, nach Gaben per os, schwere Vergiftungserscheinungen eintreten können, und zweitens, weil Saponin bzw. Sapogenin in den Ausscheidungen des Körpers anwesend sein können. Um die Resorbierbarkeit des Guajakrindensaponins vom Magen-Darmkanal aus zu

[1] Kobert, Heffters Handb. d. exp. Pharmakol. 1924, Bd. 2, II, S. 1502.

beweisen, nahm Frieboes[1] selbst 1 g neutrales Saponin, gelöst in 50 ccm Wasser, ein.

Aus den nächsten Harnportionen konnte er das reine Saponin abscheiden, rein darstellen und weiter zeigen, daß die gewonnene Substanz unzersetztes Guajaksaponin war.

Fieger[2] hat diese Tatsache beim Hunde nachgewiesen. Kobert sagt denn auch, daß die teilweise Resorbierbarkeit der Saponine und ihre Ausscheidung durch die Nieren in irgendwelcher Form, keinem Zweifel unterliege.

Kleinere Saponindosen wirken, wie Kruskal[3] zeigte, schon toxisch, wenn ein Darmkatarrh besteht. Auch wenn die Saponine selbst eine Enteritis hervorgerufen haben, werden sie vollständiger resorbiert. Eine kranke Schleimhaut resorbiert viel leichter Saponine.

Die Kumulation der per os gegebenen Digitalisprodukte liegt also ganz bestimmt zwischen den von van Esveld und den von mir bestimmten Werten. Denn eine teilweise Resorption der Digitsaponine aus dem Magen-Darmkanal nach Digitalisrohproduktgaben in der Klinik ist sicher anzunehmen.

Werden die Saponine vom Magen-Darmkanal aus resorbiert, so sind die Kumulationszahlen van Esvelds maßgebend um so mehr, je mehr Saponin in der Blutbahn anlangt.

Setze ich voraus, daß die Pflanzenschleime nach Aufnahme von galenischen Digitalispräparaten per os nicht als solche vom Magen-Darmkanal resorbiert werden, so können die folgenden Momente als wichtige Faktoren beim Zustandekommen der Kumulation in der Klinik gelten:

1. Der Gehalt des Präparates an Digitoxin.
2. Der Gehalt des Präparates an Digitsaponin.
3. Der Zustand der Darmmukosa.

Zusammenfassung.

Saponin erhöht, wenn in hoher — jedoch nicht toxischer — Konzentration den Digitalisglykosiden zugesetzt, die akute Toxizität dieser Lösungen.

In den galenischen Präparaten ist die Saponinkonzentration eine derartige, daß diese Erhöhung der akuten Toxizität nicht zu beobachten ist.

---

[1] Frieboes, Beiträge zur Kenntnis der Guajakpräparate, Stuttgart 1903, S. 71.

[2] Fieger, Biochem. Zeitschr. 1918, Bd. 86, S. 243.

[3] Kruskal, Arbeiten des Pharmakologischen Instituts zu Dorpat 1891, Bd. 6, S. 129.

Es hat sich aber weiter gezeigt, daß niedrigere Konzentrationen von Saponin, unter welchen auch die in den galenischen Präparaten von Digitalis purpureae herrschenden (obgleich sie nicht die akute Toxizität erhöhen) doch einen bestimmten Einfluß haben, nämlich daß sie die Kumulation der Digitalisprodukte erheblich verstärken. Die Kumulation reiner Glykosidlösungen verlief in meinen Versuchen gleichmäßig, insofern immer am 2. Tage weniger zurückgebliebenes Glykosid festgestellt wurde, als am 1. Tage nach der intravenösen Injektion der halben tödlichen Dosis.

Bei galenischen Produkten findet man oft am 2. Tage dieselbe Kumulation wie am 1. Tage. Es ließ sich nachweisen, daß auch bei dieser Erscheinung die Saponine eine Rolle spielen, denn wenn man sie den reinen Glykosidlösungen zusetzt, so tritt das Phänomen auch hier auf. Die Unterschiede zwischen den von van Esveld für galenische Produkte gefundenen Kumulationswerten, und den von mir auf Grund des Glykosidgehaltes berechneten Werten, lassen sich zum größten Teil durch den Einfluß der Saponine erklären.

Es hat sich gezeigt, daß es in den galenischen Präparaten auch noch Substanzen gibt, welche die Kumulation der Glykoside hemmen.

VI. Die Funktion der schleimartigen Substanzen in den galenischen Präparaten aus Digitalisblättern.

Mit 1 Textabbildung.

Bei früheren Versuchen war es auffallend, daß eine von Saponinen befreite Tinktura Digitalis purpurea, obgleich sie bekanntlich digitoxinhaltig ist, 2 Tage nach intravenöser Injektion ihrer halben tödlichen Dosis nicht mehr nachweisbar war bei dem nachherigen intravenösen tödlichen Einlauf desselben Präparates. Ja, es schien, als ob die Katzen, der Digitalis gegenüber, durch die vorherige Injektion resistenter geworden wären.

Ein ähnliches Phänomen trat an den Tag bei der Untersuchung der Kumulation des Lanatalins (Glykosid II aus Digitalis lanata; Mannich, Mohs und Mauss). Dieses Glykosid war aus einer Tinktura lanatae hergestellt. Es wurde jedoch nicht rein isoliert, sondern es befand sich als wirksames Glykosid in der „Restfraktion", also in der nach Ausschüttlung der chloroformlöslichen Lanataglykoside übriggebliebenen wässerigen Lösung. Bei der intravenösen Injektion dieses Lanatalins wurden also mehrere, nicht digitalisartig auf das Herz wirkende Substanzen zugleich mit dem Glykosid eingebracht. Diese „Beistoffe" müssen wohl dieselben sein wie diejenigen, welche immer in den galenischen Präparaten vorliegen.

In den zwei obengenannten Fällen kann von einer die Kumulation hemmenden Substanz die Rede sein. Wenn es eine solche gibt, so muß sie chloroformunlöslich sein: sie ist ja in der mit Chloroform ausgeschüttelten Restfraktion der galenischen Präparate anwesend.

Wie wir meinen, gibt es in Lanatablättern kein echtes Saponin. Die Unterschiede zwischen den, für die unvorbehandelten galenischen Digitalispräparate bestimmten Kumulationswerten (van Esveld) und den auf Grund des Glykosidgehaltes berechneten Werten (Hoekstra) sind für die Lanataprodukte denn auch andere als für die saponinhaltigen Purpureaprodukte. Bei Infusum lanatae und bei Liquor lanatae berechnet man aus dem Glykosidgehalt einen höheren Kumulationswert, als man tatsächlich im Experiment findet. Auch hier denken wir also an eine, die Kumulation der Glykoside herabsetzende, Substanz.

Die galenischen Purpureaprodukte enthalten eine Menge Digitsaponine, welche imstande sind, die Kumulation der anwesenden Glykoside 2—3(5)fach zu erhöhen, ohne die akute Toxizität des Produktes zu beeinflussen. Die Funktion der eventuell anwesenden, die Kumulation hemmenden Substanz, wird in Purpureaprodukten also stark von der deutlich hervortretenden Wirkung der Digitsaponine überragt. Aber auch hier gibt es Zeichen für eine die Kumulation erniedrigende Substanz. Das Maß, in welchem die Kumulation durch die Saponine erhöht wird, beträgt beim Infusum 2,4, bei der Tinktur 2,7, beim Liquor 4,6. Der Saponingehalt, auf eine gleiche Toxizität berechnet, verhält sich bei Infus, Tinktur und Liquor als 1,5:2:1. Beim g-Strophanthin wurde gezeigt, daß ein Zusatz von Saponin pur. „Merck" 1:50000 die Kumulation 15fach erhöht, abermals ohne die akute Toxizität des Glykosides zu ändern. Auf Grund von hämolytischen Grenzdosenbestimmungen enthält dann diese verwendete Strophanthinlösung eine Menge Saponin von derselben Größenordnung, wie sie in den galenischen Purpureaprodukten vorliegt. Wenn hier die Kumulation des Strophanthins 15fach erhöht wird, so ist es auffallend, daß dieselbe Saponinkonzentration bei Infusum purpurea und bei der Tinktur die Kumulation der Glykoside nur 2,4 bzw. 2,7mal zu erhöhen vermag. Hier liegt wohl eine Hemmung vor, welche von den Beistoffen der galenischen Präparate bedingt wird. Für diese Annahme spricht auch das Benehmen des Liquor Digitalis purpureae. In diesem gereinigten Produkt bewirkt eine relativ geringere Menge Saponin eine etwa zweimal höhere Kumulation als bei Infus und Tinktur. Daß die Saponine hier offenbar besser in der Lage sind, ihre Anwesenheit kennbar zu machen, ist wahrscheinlich der sehr kleinen Menge hemmender Beistoffe in diesem Präparat zuzuschreiben.

Jedenfalls läßt sich sagen, daß sich in den galenischen Purpureapräparaten die kumulationserhöhende Wirkung der Saponine viel deutlicher zeigt als die kumulationshemmende Wirkung der Beistoffe.

Es ist fraglich, ob die gefundenen Kumulationswerte für Bigitalin (9% der eingespritzten Dosis nach 2 Tagen) und für Lanatalin (0% der eingespritzten Dosis nach 2 Tagen) richtig sind, denn nimmer wurden die Versuche angestellt mit den reinen Glykosiden; es handelte sich vielmehr um die Kumulation der Restfraktion. Es ist sehr wohl möglich, daß Bigitalin und Lanatalin kumulierende Glykoside sind, deren Nachweis nach 2 Tagen durch die Anwesenheit der hemmenden Substanzen unmöglich geworden ist. Diese Substanzen müssen dann chloroformunlöslich sein, also in der mit Chloroform ausgeschüttelten Flüssigkeit zurückbleiben.

Welche Substanzen spielen hier eine Rolle? Fourbon fand in ätherischen Extrakten aus Blattpulver: Isovaleriansäure, n-Buttersäure, Essigsäure, Propionsäure, Ameisensäure, während beim Kochen die von Pyrame-Louis schon im Jahre 1845 gefundene Anthirrhinsäure in den galenischen Produkten entstand. Typisch für Purpurea ist sein hoher Mangangehalt (0,94—8,12 mg in 100 g Pulver). Unter den anwesenden anorganischen Salzen nimmt die Pottasche eine wichtige Stelle ein. Daneben gehen schleimartige Substanzen in die galenischen Produkte über, welche sich, nach Schüttelung des Präparates mit Chloroform, an der Scheidefläche zwischen Chloroform und Wasser anhäufen.

Zur Lösung der Frage, welche Substanz für die Hemmung der Kumulation verantwortlich ist, haben wir nach zwei Richtungen Untersuchungen angestellt, und zwar: erstens ob die Asche des Blattpulvers, und zweitens ob die schleimartigen Substanzen in Betracht kommen. Den Einfluß der anwesenden Isovaleriansäure, n-Buttersäure, Essigsäure und Ameisensäure haben wir nicht untersucht. Inwieweit ihnen eine Funktion zukommt, steht also noch dahin. Es kann jedoch gesagt werden, daß diese Stoffe nicht im Liquor vorliegen, während die von uns untersuchten schleimartigen Substanzen in diesem Präparat in geringer Menge nachzuweisen waren.

Wir untersuchten zuerst, ob die anorganischen Bestandteile eine Rolle spielen:

10 g Pulvis Digitalis purpurea „starke Pulver B." wurden im Porzellantopf geglüht. Der Rückstand, worin viel Mangan, wurde in verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung wurde neutralisiert und 500 ccm einer 20fach verdünnten Tinktura Digitalis purpureae (Spiritus dilutus 1:10) zugesetzt. Die D.l. der 20fach verdünnten Tinktur ist 18,2 ccm pro Kilogramm Katze. Die Wertbestimmung der Tinktur mit Zusatz der anorganischen Bestandteile, worin 0,9% NaCl gelöst war, ergab folgendes:

Fünf Katzen: D.l. pro Kilogramm Katze bzw. 19,1 ccm, 15,6 ccm, 15,3 ccm, 21,7 ccm, 16,3 ccm. Mittlerer Fehler 12,8%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17,6 ccm. Das gibt einen Unterschied von 3,3%, was innerhalb der Fehlergrenze der Methode liegt. Die akute tödliche Dosis ist also dieselbe.

Kumulation dieser Tinktura Digitalis purpureae (Spiritus dilutus 1:10), 20fach verdünnt, mit 0,9% NaCl, 500 ccm, mit Zusatz von anorganischen Bestandteilen aus 10 g Blattpulver.

D.l. pro Kilogramm Katze: 17,6 ccm.

Drei Katzen bekommen während etwa 20 Minuten einen intravenösen Einlauf der halben tödlichen Dosis der obengenannten Flüssigkeit.

Nach 48 Stunden wird an diesen Katzen in der üblichen Weise die tödliche Dosis bestimmt, einer g-Strophanthinlösung 1:200 000 mit 0,9% NaCl, deren akut tödliche Dosis für unvorbehandelte Tiere genau bekannt ist (22,54 ccm pro Kilogramm Katze). Diese neu bestimmte tödliche Dosis an den vorbehandelten Tieren war eine geringere und zwar bzw. 17,6 ccm, 11,4 ccm und 13,7 ccm pro Kilogramm Katze. Der durchschnittliche Wert ist also 14,2 ccm pro Kilogramm Katze.

Der Unterschied zwischen diesem Wert und der Größe der tödlichen Dosis für unvorbehandelte Tiere ist ein Maßstab für die Kumulation des verwendeten Präparates. Wir finden in casu eine Kumulation von $\frac{22{,}54 - 14{,}2}{22{,}54}\,\% = 36{,}8\%$. Der von van Esveld gefundene Wert für die unvorbehandelte Tinktur stimmt hiermit nahezu überein (32%). Ein Zusatz der anorganischen Bestandteile aus dem Digitalisblatte verursacht also keine Abnahme der Kumulationsfähigkeit. Wir sehen hier also einen sicheren Beweis dafür, daß den anorganischen Bestandteilen des Blattes keine solche Funktion zukommt, als wir den hemmenden Substanzen aus den galenischen Präparaten zugeschrieben haben.

Wir haben uns darum an zweiter Stelle um die schleimartigen Substanzen bemüht, welche in allen untersuchten Digitalisprodukten nachweisbar sind.

Schüttelt man ein Infusum Digitalis mit Chloroform, so häufen sich an der Grenzfläche zwischen Chloroform und Wasser eigentümliche, weiße, gequollene, zähe, zusammenklebende Massen auf, die mittels eines Scheidetrichters isoliert, nach Verjagung des Chloroforms in Wasser vollständig löslich sind. Nach wiederholter Ausschüttelung mit Wasser und Chloroform bekamen wir diese schleimartigen Substanzen ziemlich rein. Vollständig glykosidfrei werden sie jedoch meistens nicht. Chlorzinkjod und Jod wirken nicht ein, sie sind löslich in starker Lauge und Alkalikarbonaten und in Alkohol. Die wässerige Lösung ist viskös und bei Schüttelung schaumbildend.

Bei unserer Darstellung wurden die Saponine vorher durch Behandlung mit Cholesterin und Abfiltrierung des Cholesterin-Saponinkomplexes entfernt.

Ins Froschherz geführt, waren die noch anwesenden Glykoside nicht imstande, deutliche Digitalissymptome hervorzurufen. Durch Zusatz von Saponin (Saponin pur. Merck 1:20000) jedoch kam es zu typischem, systolischem Herzstillstand. Die Wirkung der Glykoside wird durch das Saponin verstärkt, wodurch wir die Anwesenheit von Glykosid nachweisen konnten.

Wir müssen darauf hinweisen, daß bei der Herstellung der schleimartigen Substanzen immer mit sehr großen Verlusten gearbeitet wurde. Wenn wir in den nachstehend angeführten Protokollen mitteilen, daß schleimartige Substanzen aus einer gewissen Menge Blattpulver verwendet wurden, so wollen wir damit keineswegs sagen, daß wir alle derartigen Substanzen daraus bekommen hatten. Bei der Reinigung, wie wir sie vornahmen, geht wohl etwa $^4/_5$ verloren.

Einer Tinktura Digitalis purpurea wurde die Lösung der schleimartigen Substanzen zugesetzt. Die D.l. des Produktes wurde vor und nach Zusatz der Schleime bestimmt. Es ergab sich dann oft, daß die Präparate toxischer geworden waren. Dies ist wohl dem Umstande zuzuschreiben, daß mit den schleimartigen Stoffen etwas Glykosid mit hinzugefügt worden war. Es fragt sich, ob wir hier kumulierende oder nicht kumulierende Glykoside hinzugefügt haben. Denn ist letzteres der Fall, so werden wir schon hierdurch eine geringere Kumulation finden, da die Menge kumulierendes Glykosid relativ geringer geworden ist. Diese Fehlerquelle müssen wir also bei der Beurteilung der Resultate umgehen. Wir haben nun angenommen, daß nur nichtkumulierende Glykoside hinzugefügt wurden, was wahrscheinlich nicht ganz der Wahrheit entspricht. Bei der Berechnung der zu erwartenden Kumulationswerte bekommen wir so schon eine zu niedrige Zahl. Liegt der empirisch bestimmte Wert noch beträchtlich darunter, so haben wir ein solches Resultat als positiv zu betrachten und liegt sicher eine Hemmung der Kumulation durch die hinzugefügten Substanzen vor.

Protokolle.

Wertbestimmung einer Tinktura Digitalis purpurea standarisata (Spirutus dilutus 1:10), Verdünnung 1:20 (D.l. pro Kilogramm Katze 18,2 ccm, s. III. Mitteilung), mit Zusatz einer Menge schleimartiger Substanzen aus 20 g Blattpulver (Starke Pulver B), total 500 ccm, 0,9% NaCl.

Drei Katzen: D.l. pro Kilogramm Katze bzw. 15,8 ccm, 16,3 ccm, 13,5 ccm. Mittlerer Fehler: 7,2%. Durchschnittlicher Wert: 15,2 ccm pro Kilogramm Katze. Toxizitätserhöhung $\frac{18{,}2 - 15{,}2}{18{,}2}\,\% = 16{,}5\%$.

Kumulationsbestimmung der obengenannten Flüssigkeit.

Vier Katzen bekommen innerhalb 20 Minuten die halbe tödliche Dosis intravenös eingespritzt. Nach 48 Stunden wurde an diesen Katzen eine Wertbestimmung mit einer g-Strophanthinlösung 1:200000 ausgeführt, deren tödliche Dosis 22,54 ccm pro Kilogramm Katze beträgt.

Diese war jetzt pro Kilogramm Katze bzw. 21,1 ccm, 17,3 ccm 21,3 ccm, 18,6 ccm. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze 19,6 ccm. Im Körper war noch $\frac{22{,}54 - 19{,}6}{22{,}54}\% = 13\%$ der D.l. anwesend.

Die Kumulation der unveränderten Tinktur beträgt 32%. Die Toxizität war durch den Zusatz der Schleime um 16,5% erhöht.

Nehmen wir an, daß nur nichtkumulierende Glykoside zugesetzt worden sind, so berechnen wir eine Kumulation unseres Produktes von $0{,}835 \times 32\% = 26{,}7\%$. Wir erwarten also eine Kumulation von wenigstens 26,7%. Wenn wir hier nur 13% zurückfinden, so weist dies sicher darauf hin, daß durch den Zusatz der schleimartigen Substanzen in diesem Falle die Kumulation wenigstens 2fach erniedrigt worden ist.

Einen ähnlichen Versuch stellten wir an mit dem Infusum Digitalis purpureae. Wir nahmen auf 400 ccm Infus (0,5:100) schleimartige Substanzen aus 10 g Starke Pulver B. Nach 2 Tagen fanden wir eine Kumulation von 34%. Da van Esveld eine Kumulation von 35% gefunden hatte, kam in diesem Versuch also kein herabsetzender Einfluß der schleimartigen Substanzen an den Tag.

Wir untersuchten weiter, ob vielleicht diese Hemmung der Kumulation durch Muzilaginosa im allgemeinen hervorgerufen werden konnte; hierzu wurde die Tubera saleb gewählt.

Protokolle.

Wertbestimmung einer Tinktura Digitalis purpurea standarisata (Spiritis dilutus 1:10), Verdünnung 20fach, hinzugefügt wurde ein Infus aus 3 g Tubera saleb. Total 400 ccm, 0,9% NaCl.

Drei Katzen: D.l. pro Kilogramm Katze bezw. 22 ccm, 19,3 ccm, 20,2 ccm. Mittlerer Fehler 5%. Durchschnittlicher Wert 20,5 ccm pro Kilogramm Katze.

Kumulation der obengenannten Flüssigkeit.

Sechs Katzen bekommen innerhalb 20 Minuten eine intravenöse Injektion der halben tödlichen Dosis. Nach 48 Stunden wird eine Wertbestimmung mit g-Strophanthinlösung 1:200000 (D.l. pro Kilogramm Katze 22,54 ccm) ausgeführt. Die tödliche Dosis pro Kilogramm Katze war jetzt bzw. 14,9 ccm, 17,6 ccm, 17,3 ccm. Drei Katzen starben kurz nach der Injektion. Durchschnittlicher Wert 16,8 ccm pro Kilogramm Katze. Im Körper zurückgeblieben: $\frac{22{,}54 - 16{,}8}{22{,}54}\% = 25{,}4\%$.

Die Kumulation ohne Zusatz von Tubera saleb beträgt 32%. Der geringe Unterschied läßt wohl nicht gleich auf eine allgemein geltende, die

Kumulation herabsetzende Funktion der Muzilaginosa schließen. Wir kommen hierauf später beim Froschversuch noch zurück.

Bei dem Versuch mit der Tinktura mit Zusatz von Schleimen erhob sich die Frage, wie wir uns die Wirkung der Schleime zu denken haben. Da schon früher bewiesen wurde, daß Saponine die Kumulation der Digitalisglykoside erhöhen, ließ sich denken, daß die Wirkung der schleimartigen Substanzen darauf beruhte, daß sie die Saponinwirkung aufheben oder vermindern. Daß dies der Fall sein würde, hielten wir zwar nicht für wahrscheinlich, denn das Benehmen von nicht saponinhaltigen Präparaten hatte uns unter mehr zur Annahme einer hemmenden Substanz geführt. Dennoch wurden Versuche mit von Saponinen befreitem Liquor Digitalis purpurea angestellt. Wenn man lediglich mit einem saponin-antagonistischen Einfluß zu tun hätte, müßte jetzt die Kumulationshemmung ausbleiben.

Wertbestimmung eines saponinfreien Liquor Digitalis purpurea (Ned. pharm. Ed. V) 1:8 mit Zusatz von schleimartigen Substanzen aus 20 g Starke Pulver B. 0,9% NaCl. Total 400 ccm.

Drei Katzen: D.l. pro Kilogramm Katze bzw. 17,3 ccm, 17,7 ccm, 15,6 ccm. Mittlerer Fehler: 4,9%. Durchschnittlicher Wert 16,9 ccm pro Kilogramm Katze. Keine Toxizitätszunahme (ursprünglicher Liquor 1:8, D.l. pro Kilogramm Katze 16,2 ccm).

Kumulationsbestimmung mit obengenannter Lösung.

Vier Katzen bekommen innerhalb 20 Minuten eine Injektion der halben tödlichen Dosis. Nach 48 Stunden wurde eine Wertbestimmung mit einer Strophanthinlösung 1:200000 ausgeführt. Die tödliche Dosis pro Kilogramm Katze war jetzt bzw. 21,3 ccm, 23,3 ccm, 21,7 ccm, 15 ccm. Ausgeschaltet wurde nach der Methode von van Esveld die vierte Katze, da sie mehr als 25% abwich.

Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 22,1 ccm. Im Körper zurückgeblieben: $\frac{22{,}54 - 22{,}1}{22{,}54}\ \% = 2\%$.

Wie in einer früheren Mitteilung erwähnt wurde, beträgt die Kumulation des entsaponinten Liquors 8,8%.

Wir sehen hier also eine 4fache Herabsetzung der Kumulation unter Einfluß der zugesetzten schleimartigen Substanzen.

Es wurde auf eine in einer früheren Mitteilung beschriebenen Weise eine Digitoxinfraktion hergestellt aus Infusum purpurea, wobei verversehentlich der Eiweiß-Digitoxinniederschlag nicht gewaschen wurde. Das erhaltene Digitoxin war daher ein wenig mit anderen Glykosiden

verunreinigt. Es zeigte sich im Froschherzen, daß diese Verunreinigung höchstens etwa 10% betrug. Der Digitoxingehalt beträgt also mindestens 90%.

Protokolle.

Wertbestimmung dieser Digitoxinlösung in 72 ccm NaCl 0,9%. Vier Katzen: D.l. pro Kilogramm Katze bzw. 17,2 ccm, 13,4 ccm, 18,6 ccm, 15,3 ccm. Mittlerer Fehler 11%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze 16,1 ccm. 400 ccm dieser Lösung wurden 60 ccm einer Lösung von schleimartigen Substanzen aus 7,5 g Starke Pulver B zugefügt. Die D.l. des Gemisches berechnet sich auf $\frac{400 + 60}{400} \times 16{,}1$ ccm $= 17{,}5$ ccm.

Wertbestimmung obengenannter Lösung.

Vier Katzen: D.l. pro Kilogramm Katze bzw. 18,1 ccm, 15,8 ccm, 15,3 ccm, 14,4 ccm. Mittlerer Fehler 7,6%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze 15,8 ccm. Toxizitätserhöhung $\frac{17{,}5 - 15{,}8}{17{,}5}\ \% = 9{,}7\%$.

Schreiben wir diese Erhöhung wiederum nicht kumulierenden Glykosiden zu, so ist der Digitoxingehalt der Lösung $\frac{15{,}8}{17{,}5} \times 90\% = 81{,}3\%$ der Gesamtglykoside.

Nach 2 Tagen findet man im Körper 82% der eingespritzten Digitoxinmenge zurück. Wir können hier also berechnen, daß dann $81{,}3 \times 0{,}82\% = 66{,}6\%$ der Gesamtglykosidmenge, das ist 33,3% der D.l., nach 2 Tagen zurückgefunden werden muß.

Kumulation nach 2 Tagen dieser 81,3%igen Digitoxinlösung mit Zusatz von schleimartigen Substanzen aus 7,5 g Starke Pulver B. Tödliche Dosis pro Kilogramm Katze 15,8 ccm.

Sechs Katzen bekommen innerhalb 20 Minuten eine Injektion der halben tödlichen Dosis. Nach 48 Stunden wurde die tödliche Dosis bestimmt mit einer Strophanthinlösung 1:200000. Es wurde eine neue Lösung verwendet.

Wertbestimmung dieser Lösung an drei unvorbehandelten Katzen.

D.l. pro Kilogramm Katze bzw. 22,2 ccm, 20,3 ccm, 19,4 ccm, Mittlerer Fehler 5%. Tödliche Dosis pro Kilogramm Katze 20,6 ccm.

Die tödliche Dosis dieser Strophanthinlösung war jetzt bei den vorbehandelten Tieren 18,1 ccm, 21,4 ccm, 10,4 ccm 18,4 ccm, pro Kilogramm Katze. Zwei Katzen waren nach der Injektion gestorben.

Ausgeschaltet wurde nach van Esveld Katze Nr. 3, da sie 64% abwich. Durchschnittlicher Wert: 19,3 ccm pro Kilogramm Katze. Es ergibt sich eine Kumulation der verwendeten Lösung von $\frac{20{,}6 - 19{,}3}{20{,}6}\% = 6{,}4\%$. Da die Kumulation auf 33,3% berechnet wurde, ist sie durch die Anwesenheit der schleimartigen Substanzen also 5fach herabgesetzt.

An dieser Stelle kann jetzt das Benehmen der Tinktura Digitalis lanatae besprochen werden. Dieses Produkt kumuliert bei intravenöser Einverleibung mehr (van Esveld) als sein Glykosidgehalt berechnen läßt (Hoekstra). Die Tinktur ist jedoch sehr reich an Lanatalin (74,5%). Bei der Berechnung wurde vorausgesetzt, daß Lanatalin gar nicht kumuliert. Die Bestimmungen des Kumulationswertes von Lanatalin und Bigitalin waren aber immer ausgeführt an den „Restfraktionen", worin sich reichliche Mengen schleimartiger Substanzen befanden. Es ist also sehr wohl möglich, wie wir schon oben betonten, daß das Lanatalin ein mäßig kumulierendes Glykosid ist, welche Eigenschaft in den Kumulationsbestimmungen von den schleimartigen Substanzen verdeckt war. Betrachten wir jetzt die Menge schleimartiger Substanzen in der Tinktura lanatae. Unter Voraussetzung, daß aus 1 g Pulver aus Purpureablatt eine gleich große Menge Schleime herkommt als aus 1 g Lanatablattpulver, ergibt sich, daß in der Lanatatinktur (welche verwendet wurde in einer Verdünnung 1:75) weniger Schleime anwesend sind als in der Tinktura purpurea (welche 20fach verdünnt verwendet wurde). Wir sehen hier also ein Produkt mit sehr viel Lanatalin und verhältnismäßig wenig schleimartige Substanzen. Wenn nun dem reinen Lanatalin eine, sei es auch nur geringe, Kumulation zuzuschreiben wäre, würde diese Eigenschaft hier gut imstande sein sich zu zeigen. In dieser Hinsicht ließe sich dann die Diskrepanz zwischen der von Hoekstra berechneten und der von van Esveld empirisch bestimmten Kumulation deuten.

Es fragt sich jetzt, worauf das Phänomen der Kumulationshemmung beruhen kann. Die zwei Versuche mit dem entsaponinten Liquor und der Digitoxinfraktion weisen darauf hin, daß die Funktion der schleimartigen Substanzen unabhängig ist von der Anwesenheit von Saponinen. Daß übrigens umgekehrt auch die Saponine wirksam sein können bei Anwesenheit der schleimartigen Substanzen, geht hervor aus den obengenannten Versuchen, worin die Glykoside in den gereinigten Schleimen noch am Froschherzen nachgewiesen werden konnten, als man ihre Wirkung durch Zusatz von Saponinen verstärkte. Wir bestimmten weiter die toxischen Grenzdosen der Saponine für das isolierte Froschherz mit

und ohne diese schleimartigen Substanzen. Die Giftigkeit der Saponine zeigte sich unabhängig von der An- oder Abwesenheit der Schleime. Eine Hemmung der Kumulation kann jedoch auch in anderer Weise zustande kommen. Es könnte sich um eine verringerte Eindringung der Glykoside in das für die Kumulation verantwortliche Substrat handeln. Wir können das nicht leugnen, finden jedoch auch keinen einzigen Anhaltspunkt in dieser Richtung. Es läßt sich weiter denken, daß unter Einfluß der schleimartigen Substanzen die einmal ins Herz eingedrungenen Glykoside schneller zerlegt oder andersartig unwirksam gemacht werden könnten. Es fehlen uns in dieser Beziehung alle experimentellen Daten. Schließlich besteht die Möglichkeit einer rascheren Abgabe aus dem Herzen unter Einfluß der schleimartigen Substanzen. Die unten näher behandelten Versuche sprechen für diese Auffassung. Wir haben nämlich versucht, ob unter Mithilfe dieser Substanzen die Digitoxinwirkung auf das Froschherz rückgängig zu machen ist. Es versteht sich, daß der Vorgang am isolierten Froschherzen nicht ohne weiteres den Prozessen im Säugetierherzen im Kreislauf gleichzustellen ist. Im allgemeinen läßt sich jedoch sagen, daß diejenigen Glykoside, welche im intakten Tier kumulieren, nur schwer oder gar nicht aus dem isolierten Froschherzen auswaschbar sind, daß also doch immer ein gewisser Parallelismus zwischen den beiden Erscheinungen besteht. Die Auswaschversuche wurden am Froschherzen an der Straubkanüle angestellt (Rana esculenta) mit Digitoxin pur. Merck mit und ohne schleimartige Substanzen (aus „Starke Pulver B."). Es wurde zuerst eine Konzentration des Digitoxins pur. Merck festgestellt, die eine deutliche Vergiftung des Herzens innerhalb 10 Minuten hervorrief. Wir brauchten dazu eine Lösung von 1:60000. Für die Auswaschversuche wählten wir Lösungen von 1:40000 bzw. 1:30000.

Nur wenige Herzen kamen bei dieser Vergiftung zu einem wirklichen systolischen Stillstand. Die meisten zeigten nach längerer Zeit einige sehr unregelmäßige Kontraktionen und gingen erst nach aktiver Dilatation des Ventrikels in systolischen Stillstand über. Es zeigte sich nun folgendes:

1. Eine Vergiftung mit Digitoxin 1 : 60000 (bis 1 : 30000) in Ringer ist völlig unauswaschbar mit Ringerlösung.

2. Eine Vergiftung mit Digitoxin 1 : 40000 (bis 1 : 30000) in Ringer ist nur sehr wenig auswaschbar mit Ringerlösung unter Zusatz von schleimartigen Substanzen.

Es kam in einigen Fällen zur Aufhebung des Dissoziation zwischen Atrium und Ventrikel, also zu einer Erholung der Rhythmik, die Kontraktionen aber hatten sehr an Größe abgenommen, und es trat keine Besse-

rung mehr ein. Die Frequenz ist auf die Hälfte herabgesetzt. Aktive Dilatation gibt Stillstand.

3. Eine Vergiftung mit Digitoxin 1 : 40000 (bis 1 : 30000) in Ringer mit schleimartigen Substanzen ist mit Ringerlösung größtenteils aus-

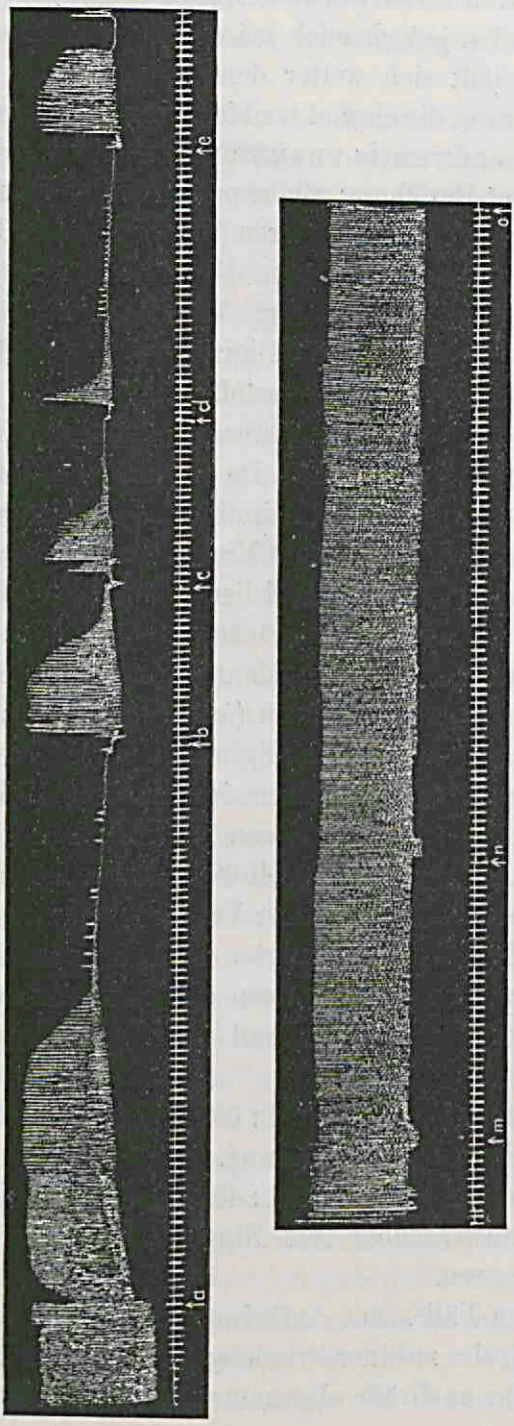


Abb. 1. Versuch 18, 2. Teil. Herz von Rana esculenta an der Straubkanüle, wird bei *a* zum zweiten Male vergiftet mit Digitoxin 1 : 30 000 in Ringer mit schleimartigen Substanzen aus Digitalisblatt. Bei *b*, *c*, *d* usw. wird jedesmal ausgewaschen mit Ringer mit schleimartigen Substanzen. Durch jeden Flüssigkeitswechsel wird das Herz für kurze Zeit zu Pulsationen gereizt. Nach dem 12. Flüssigkeitswechsel (*m*) sind ursprüngliche Frequenz, Regelmaß und Hubhöhe nahezu wieder erreicht. Zeit: 10 Sekunden.

waschbar. Die Dissoziation wird völlig aufgehoben, das Herz schlägt regelmäßig, die Hubhöhe der Ventrikelkontraktionen ist auf ungefähr $^2/_3$ herabgesetzt. Die Frequenz hat sich zuweilen völlig erholt. Aktive Dilatation gibt keinen Stillstand.

4. Eine Vergiftung mit Digitoxin 1 : 40000 (bis 1 : 30000) in Ringer mit schleimartigen Substanzen ist mit Ringerlösung mit Zusatz von schleimartigen Substanzen fast ganz auswaschbar. Es ergibt sich eine fast totale Erhohlung von Rhythmus, Größe der Ausschläge, Frequenz; aktive Dilatation verursacht keinen Stillstand.

Wir geben hier unten einige Beispiele aus unseren Protokollen.

Versuch 17.

1 ccm Digitoxin 1 : 30000 in Ringer. 6 Minuten später starke Vergiftung, 10 Minuten später wurde die Lösung verwechselt für 1 ccm Ringerlösung, worin schleimartige Substanzen waren. Im Laufe 1 Stunde wurde dieses viermal wiederholt, darnach wurde noch zweimal mit Ringerlösung nachgewaschen. $1^1/_2$ Stunden nach der Vergiftung sehen wir: regelmäßige Kontraktionen, partieller Block, Hubhöhe nur etwa $^1/_5$ von derjenigen vor der Vergiftung. Aktive Dilatation verursacht systolischen Stillstand.

Versuch 12.

1 ccm Digitoxin 1 : 300000 + schleimartige Substanzen. Nach $8^1/_2$ Minuten deutliche Vergiftung. 30 Minuten später Lösung verwechselt für 1 ccm Ringerlösung, worin schleimartige Substanzen. Innerhalb 1 Stunde wurde dieses fünfmal wiederholt. Hiernach wurde die Flüssigkeit verwechselt für 1 ccm Ringerlösung. Aktive Dilatation ergab keinen systolischen Stillstand mehr. Fast völlige Erholung des Herzens.

Versuch 15.

1 ccm Digitoxin 1 : 30000 + schleimartige Substanzen. Nach 10 Minuten starke Vergiftung; 30 Minuten später Lösung verwechselt für 1 ccm Ringerlösung. Dieses wurde innerhalb 1 Stunde sechsmal wiederholt. Aktive Dilatation ergab keinen systolischen Stillstand mehr. Frequenz nicht ganz erholt, Hubhöhe ungefähr $^2/_3$ der ursprünglichen Größe.

Versuch 18.

1 ccm Digitoxin 1 : 30000 + schleimartige Substanzen. Nach 6 Minuten starke Vergiftung. Nach etwa 40 Minuten wurde die Flüssigkeit verwechselt für 1 ccm Ringerlösung, worin schleimartige Substanzen. In $^1/_2$ Stunde wurde diese Flüssigkeit noch zweimal erneuert, dann durch Ringerlösung ersetzt. Frequenz, Hubhöhe, Rhythmus vollständig erholt. Es gelang uns dieses Herz noch ein zweites Mal zu vergiften und nachher die Vergiftung wieder auszuwaschen. Hierbei trat an den Tag, daß das Digitoxin doch nicht völlig verschwunden war: die Vergiftung trat das zweite Mal rascher und heftiger ein, und es dauerte viel länger, ehe das Herz sich durch Auswaschen wieder erholt hatte (mehr als 2 Stunden), was auch nicht in so hohem Grade wie das erste Mal der Fall war.

Abb. 1 zeigt ein Beispiel dieser Auswaschversuche.

Auch hier haben wir die gleichen Versuche angestellt mit Pflanzenschleimen aus Tubera saleb. Ebenso wie bei unserem Versuche mit Tinktur und Tubera saleb an der intakten Katze trat auch hier keine Wirkung auf. Wir meinen also mit einer für die schleimartigen Substanzen aus Folia Digitalis spezifischen Wirkung zu tun zu haben. Diese Schleime bewirken eine Auswaschbarkeit der Vergiftung eines durch Digitoxin stillstehenden Herzens. Es läßt sich vermuten, daß auch die Abnahme der Kumulation bei der Katze auf einer Erleichterung der Abgabe des Digitoxins und der anderen Glykoside unter Einfluß der schleimartigen Substanzen des Digitalisblattes beruht.

Zusammenfassung.

Die schleimartigen Substanzen, welche sich in den galenischen Produkten von Digitalis purpurea finden, hemmen die Kumulation der Glykoside aus diesem Blatte. Es ist wahrscheinlich, daß auch die Blätter von Digitalis lanata ähnlich wirkende schleimartige Substanzen enthalten.

Unter Einfluß dieser Schleimstoffe läßt sich die Digitoxinvergiftung des isolierten Froschherzens größtenteils rückgängig machen.

Wir vermuten, daß die Hemmung der Kumulation durch die schleimartigen Substanzen auf einer leichteren Abgabe derselben aus dem Herzen beruht.

Schleime aus Tubera saleb haben diese Wirkung nicht.

VII. Digalen „Roche".

Die von mir in früheren Mitteilungen beschriebenen Untersuchungen wurden hauptsächlich angestellt mit galenischen Präparaten, welche aus Digitalis purpurea und aus Digitalis lanata hergestellt waren. Es wurden eine quantitative Isolierungsmethode der Glykosidfraktionen und Kumulationsversuche mit diesen Glykosiden beschrieben. Es stellte sich heraus, welch eine bedeutende Rolle die Saponine in dem Digitalisgebrauch spielten, und es zeigte sich, daß die in den Rohprodukten anwesenden Pflanzenschleime nicht ohne jeden Einfluß auf die Kumulation des intravenös einverleibten Präparates sein konnten.

Die quantitative Isolierung der Glykosidfraktionen aus den Präparaten ist leicht anwendbar, auch aus Digitalisspezialitäten.

Wenn man aus irgendeinem galenischen Präparat, mit Einschluß der Liquores, die Fraktionen isoliert und untersucht, so gelingt es daraus den Schluß zu ziehen, ob das Präparat von Digitalis purpurea oder von Digitalis lanata herrührt.

Es erhebt sich jetzt die Frage, ob es auch möglich ist, durch Isolierung der Fraktionen aus Spezialitäten deren Abkunft auszufinden.

Es ist mir nicht möglich gewesen, alle Spezialitäten aus dem Handel in dieser Richtung zu untersuchen und zu identifizieren. Als Probe, ob eine solche Untersuchung möglich ist, habe ich eine der am meisten verschriebenen Spezialitäten gewählt, nämlich Digalen „Roche". Das Digalen „Roche" (Digitoxinum solubile Cloëtta) hämolisiert rote Blutkörperchen nicht, ist also nicht saponinhaltig. Den Katzen per os gegeben, ist seine Wirkungskraft nach Alday Redonnet[1] 15—20% derjenigen nach intravenöser Einführung.

Zuerst wurden Versuche auf das isolierte Froschherz angestellt. Es wurde die Grenzdosis gesucht, welche Froschherzen (Rana esculenta) an der Straubkanüle innerhalb 5 Minuten zum Stillstand brachte.

Digalen Muster 1. Drei Froschherzen enden innerhalb 5 Minuten auf einer 5fachen Verdünnung des Präparates.

[1] Arch. de Cardiologia y hematologia 1927, Bd. 8, Nr. 12.

Muster 2. Drei Froschherzen enden auf unverdünntem Digalen.

Muster 3. B. 303070. Drei Froschherzen enden auf einer 15fachen Verdünnung des Präparates.

Es wurde dieselbe Grenzdosis gesucht für Gitalin (Purpurea) in froschisotonischer Ringerlösung. Es ergab sich, daß diese Grenzkonzentration eine Lösung war von 1 K.E. (1 K.E. = die tödliche Menge Gift für 1 kg lebende Katze) Gitalin in 46 ccm Ringer.

$2^1/_2$ ccm Digalen B. 303070 (Muster 3), pharmakologisch also ebenso toxisch wie $\frac{2{,}5 \cdot 15}{46}$ K.E. Gitalin = etwa 0,815 K.E. Gitalin purpureae, wurden vorsichtig in vacuo eingedampft bis $1^1/_2$ ccm und mit Wasser verdünnt auf 20 ccm. Hinzugefügt wurden 40 ccm Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. Das Gemisch wurde mit Ammoniumsulfat gesättigt. Die niedergeschlagenen Eiweiße werden abfiltriert und mit absolutem Alkohol extrahiert. Dieser Extrakt wurde eingedampft und in 5 ccm Froschringer gelöst.

Diese Lösung kann noch fünfmal verdünnt werden, um das Froschherz innerhalb 5 Minuten in Systole zu versetzen. Ich isolierte also eine Eiweißfraktion mit einer Wirkung wie $\frac{5 \cdot 5}{46}$ K.E. Gitalin = etwa 0,54 K.E. Gitalin.

An Wirksamkeit hatte ich also $\frac{0{,}54}{0{,}00815}$ % der ursprünglichen Vollwirksamkeit zurückbekommen = etwa 66,3%. Mit der indirekten Methode (Mitteilung III) versuchte ich dieses Ergebnis zu kontrollieren.

4 ccm Digalen wurden vorsichtig in vacuo eingedampft, bis 2 ccm zurückgeblieben waren, diese wurden mit Wasser wieder verdünnt auf 5 ccm, 6 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit und 1 ccm Aluminiumhydroxyd B. wurden hinzugefügt. Dann wurde zentrifugiert, und die Wirksamkeit der im Zentrifugenrohr anwesenden klaren Flüssigkeit auf Stärke an isolierten Froschherzen untersucht.

Es zeigte sich kein merklicher Wertverlust. Die tödliche Grenzdosis lag jetzt bei einer 5fachen Verdünnung der Lösung; diese Verdünnung ist also eine 15fache des ursprünglichen Präparates, d. h. dieselbe Verdünnung, in welcher unbehandeltes Digalen (Muster 3) innerhalb 5 Minuten das Herz in Systole versetzt. Die oben beschriebenen Versuche wurden wiederholt angestellt, immer mit demselben Resultat.

Es ergab sich also die merkwürdige Tatsache, daß eine direkte Digitoxingehalt-(=Eiweißfraktion-)Bestimmung mittels Eiweiß und Ammoniumsulfat einen Gehalt von etwa 66,3% an diesem Glykosid zeigte,

während die Kontrollversuche hier völlig anders ausfielen: eine Bestimmung der Eiweißfraktion des Digalens auf indirektem Wege, mit dem isolierten Froschherzen als Eichungsobjekt, weist sogar auf eine völlige Abwesenheit der Eiweißfraktion hin.

Bevor ich weitere Wertbestimmungen der einzelnen Digalenglykosidfraktionen anstellen konnte, war es notwendig, hier genauere Angaben zu erhalten. Ich löste dazu 1 ccm Digalen in isotonisch gemachter Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit.

Ein Froschherz steht in einer Digalenlösung in Ringer 1 : 15 (s. oben) innerhalb 5 Minuten systolisch still.

In der Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit klopften die Herzen immer weiter auf einer Digalenverdünnung 1 : 15, und die tödliche Grenzdosis lag bei 1 : 7,5.

Es zeigte sich also eine zwar nicht völlige, jedoch deutlich nachweisbare Hemmung der Digalenwirkung durch artfremdes Eiweiß.

30 ccm Digalen wurden vorsichtig bis auf das halbe Volum in vacuo eingedampft. Jetzt wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt und die in Chloroform gelöste Glykosidfraktion in vacuo in 58 ccm froschisotonischer Ringer übergeführt. Diese Lösung von chloroformlöslichem Glykosid wurde mit isotonisch gemachter Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit gemischt und in das Froschherz an der Straubkanüle gebracht. Das Froschherz zeigte keine Digitalissymptome, sogar nicht in Glykosidlösung 1 : 2. Sobald der Lösung 1 Tropfen Galle hinzugefügt wurde oder als ich von vornherein eine herzunwirksame Menge Saponine mit in die Lösung brachte, endeten diese Herzen sehr schnell in Systole. Es zeigte sich also, daß alles chloroformlösliche Glykosid aus Digalen in seiner Herzwirkung durch Kaninchenbauchhöhlenfüssigkeit, dem Froschherzen gegenüber, entgiftet wird.

Eine folgende Versuchsreihe wurde angestellt mit Digalen, welches mit artfremdem Eiweiß und Aluminiumhydroxyd B. vorbehandelt worden war. Die hypothetische Eiweißfraktion wurde abzentrifugiert (s. Mitteilung III) und die im Zentrifugenrohr oben stehende klare Flüssigkeit weiter untersucht: mit Chloroform wurde dreimal während einer halben Stunde im Schüttelapparat geschüttelt. Die Chloroformfraktion und die Restfraktion wurden beide in 5 ccm Froschringer gelöst, und sie stellten sich als gleich toxisch heraus: beide Lösungen ließen höchstens in fünfmaliger Verdünnung noch schnell das Herz systolisch enden.

Orientierenderweise läßt sich also sagen, daß das von der hypothetischen Eiweißfraktion (Digitoxin) befreite Digalen zusammengesetzt ist aus zwei Fraktionen, welche in etwa gleich starken Mengen anwesend

sind. Eine dieser Glykosidfraktionen, und zwar die chloroformlösliche, wird aber auch in artfremdem Material entgiftet.

Es fragt sich nun, ob in der Chloroformfraktion des unbehandelten[1] Digalens mehrere Glykoside anwesend sind. Zur Lösung dieser Frage wird eine Chloroformfraktion aus 30 ccm unbehandeltem Digalen in Wasser gelöst und mit Kaninchenei weiß und Aluminiumhydroxyd B behandelt. Die in den Zentrifugenröhren oben stehende klare Flüssigkeit wird weiter verarbeitet (s. unten).

Der abzentrigufierte Aluminiumhydroxyd B.-Eiweißkomplex wurde dreimal mit Wassser ausgewaschen und dann mit einer ammoniakalen Diammoniumphosphatlösung nach der Methode von Willstätter[2] eluiiert. Das Eluat wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt, dieser Chloroformextrakt wurde eingedampft und der Rückstand in Froschringer gelöst. Diese Ringerlösung wurde ins isolierte Froschherz geführt, welches Herz typische Digitalissymptome zeigte und in Systole endete. Die Wirkung war irreversibel. Es gab also sicher im Digalen ein Glykosid, welches sich, gebunden an Eiweiß, mittels Aluminiumhydroxyd abzentrifugieren ließ. Bei Digitalis purpurea und Digitalis lanata bildet dieses Glykosid die Digitoxinfraktion. Auch hier deutet die irreversibele Wirkung auf das Froschherz darauf hin, daß auch beim Digalen dieses sich an Eiweiß bindende Glykosid die Digitoxinfraktion darstellt. Zusammen mit Kaninchenei weiß ins isolierte Froschherz geführt, ist dieses Glykosid atoxisch. Die aus den Zentrifugenröhren abpipetierte klare oben stehende Flüssigkeit wird in Ringerlösung ins Froschherz geführt, welches sofort in digitalisartiger Weise systolisch endet. In der Chloroformfraktion des unbehandelten Digalens sind also zwei Glykoside anwesend. Das erste Glykosid bindet sich an Eiweiß und läßt sich durch Aluminiumhydroxyd mit dem Eiweiß abzentrifugieren, es ist löslich in Alkohol und Chloroform und hat eine irreversibele Wirkung auf das Froschherz.

Das zweite Glykosid aber zeigt sich, ebenso wie das oben beschriebene Glykosid, dem Froschherzen gegenüber atoxisch in Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit. Es läßt sich wie Digitoxin mit $(NH_4)_2SO_4$ aussalzen, ohne dabei zerstört zu werden (wie Gitalin aus Purpurea), während Galle und Saponin sofort die Vollwirksamkeit des Glykosides im artfremden Material hervortreten lassen. Pharmakologisch läßt sich also sagen, daß auch diese „Gitalin"-Fraktion des Digalens sich an artfremdes Eiweiß

[1] Unbehandeltes Digalen heißt hier und weiter Digalen woraus nur der Alkohol in vacuo vertrieben ist.

[2] Willstätter und Racke, Liebigs Ann. d. Chem. 1920/21, Bd. 425, 1, S. 59.

bindet, sich aber aus dieser physikalischen Bindung durch Aluminiumhydroxyd verdrängen läßt. Dies letzte also im Gegensatz zu der Digitoxinfraktion.

Die Wirkung des beschriebenen Glykosides ist teilweise auswaschbar, wodurch es sich auch von der Digitoxinfraktion unterscheidet. Weiter erträgt das Glykosid Kochen mit Äther-Alkohol und $^1/_2$stündiges Erwärmen auf 90°. Die Restfraktion (Bigitalinfraktion), welche nach Ausschüttelung des unbehandelten Digalens mit Chloroform übrig bleibt, ist ein äußerst labiler Körper. Kochen in vacuo mit Äther-Alkohol, ebenso wie Erwärmen auf 60°, zumal im schwach-sauren Milieu[1], oder längeres Aufbewahren setzt ihn bald in unwirksame Bestandteile um. Der schnelle Wertverlust nach Erhitzen des Digalens ist wohl diesem Glykosid zuzuschreiben. Die Wirkung dieses Glykosides auf des Froschherz ist leicht auswaschbar.

Zusammensetzung des Digalens „Roche“.

Für die genaue Isolierungsmethodik der einzelnen Fraktionen siehe dritte Mitteilung.

Wertbestimmung von Digalen.

40 Flaschen Digalen entnahm ich je 1 ccm und stellte eine Verdünnung 1 : 8 mit NaCl-Lösung 0,9% her.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 11,5 ccm, 14,8 ccm, 12,9 ccm. Mittlerer Fehler: 9%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 13,1 ccm. Eine Katzeneinheit Digalen = 1 K.E. = die Menge Gift, benötigt um 1 kg lebende Katze zu töten $= \frac{13,1}{8}$ ccm = 1,6375 ccm Digalen.

a) Wertbestimmung der Gitalinfraktion des Digalens.

Ausgegangen von 48,96 ccm Digalen, also von $\frac{48,96}{1,6375}$ K.E. = 29,9 K.E. Vorsichtig wurde in vacuo destilliert, bis der Alkohol aus dem Digalen verschwunden war. Dann wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt,

---

[1] Wenn man vor und nach Aluminiumhydroxydapplikation die P_H der Flüssigkeit mißt, so zeigt sich die merkwürdige Tatsache, daß die P_H nach der alkalischen Seite hin verschoben worden ist. Dies muß wohl erklärt werden durch die Anwesenheit eines Puffergemisches. Die Möglichkeit lag also vor, daß der Gitalinkörper nur deshalb nicht vom Aluminiumhydroxyd mitgeschleppt wurde, weil die Reaktion zu stark alkalisch war. Ich habe darum einige Male der Bauchhöhlenflüssigkeit Essigsäure zugesetzt, bevor das Aluminiumhydroxyd beigefügt wurde. Auch jetzt aber blieb der Gitalinkörper in der Flüssigkeit.

jedesmal während einer halben Stunde; der Chloroformextrakt wurde in vacuo unter fortwährendem Beitropfen von Wasser eingedampft. Als alles Chloroform übergegangen war, wurden 300 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit hinzugefügt und die Eiweiß-Digitoxinbindung mit 40 ccm Aluminiumhydroxyd B. abzentrifugiert. Das Aluminiumgel wurde mit Wasser ausgewaschen, welches Wasser bei der aus den Zentrifugenröhren pipetierten reinen Glykosidlösung gebracht wurde. Ohne Verlust war in dieser Weise in 544 ccm Flüssigkeit eine Glykosidlösung hergestellt worden, welche mit NaCl isotonisch gemacht wurde.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 35,4 ccm, 39,1 ccm, 40,5 ccm. Mittlerer Fehler: 5%. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 38,4 ccm. Anwesend also: $\frac{544}{38,4}$ K.E. Glykosid $=14,16$ K.E. oder $\frac{14,16}{0,299}=47,4\%$.

b) Wertbestimmung der Eiweißfraktion aus Digalen (= Digitoxinfraktion).

Indirekte Methode (s. Mitteilung III).

Ausgegangen von 24,5 ccm Digalen, also von $\frac{24,5}{1,6375}$ K.E. $=14,96$ K.E. Nach Destillation in vacuo, bis der Alkohol aus dem Digalen entfernt war, wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die im Chloroform gelösten Glykoside (das sind also die Gitalin- und die Digitoxinfraktion) werden in 288 ccm NaCl isotonisch gelöst.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 31,4 ccm, 28 ccm, 26,7 ccm. Mittlerer Fehler: 6,2 %. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 28,7 ccm. Anwesend waren also $\frac{288}{28,7}=10$ K.E. oder $\frac{10}{0,1496}\% = 66,8\%$ der Totalwirksamkeit an den zwei Arten von Glykosiden. Die Größe der Digitoxinfraktion des Digalens ist demnach: $66,8-47,4\% = 19,4\%$.

c) Wertbestimmung der mittels Eiweiß und Ammoniumsulfat erhaltenen Glykosidfraktionen (Eiweiß-Digitoxinfraktion + Gitalinfraktion).

Ausgegangen von 30 ccm Digalen, das sind $\frac{30}{1,6375}$ K.E. $=18,32$ K.E. Hinzugefügt 200 ccm Bauchhöhlenfüssigkeit. Das Gemisch gesättigt mit $(NH_4)_2SO_4$ und die niedergeschlagenen Substanzen abfiltriert.

Nach Extraktion des Filterrückstandes mit absolutem Alkohol und einmaliger Umkristallisierung zeigen sich die Glykoside ganz in Wasser unlöslich. Die Wasserlöslichkeit des reinen Glykosides scheint also sehr fraglich. Die zwei Digalenglykosidfraktionen wurden aufgefangen in 120 ccm 0,9% NaCl. Obwohl die Suspension sich nicht für Wertbestimmungen eignet wegen des sich im Hatcherschen Apparat bildenden Sedimentes, werden dennoch Wertbestimmungen an Katzen angestellt. Nach zwei Wertbestimmungen war jedoch eine genaue Angabe über den Wert des Produktes nicht mehr zu bekommen. Es hatten sich unlösliche Glykosidkristalle gebildet, wodurch die dritte Katze bald nach dem Beginn des Einlaufes starb.

Drei Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 10,4 ccm, 10,7 ccm, 3,6 ccm. Die dritte Katze wird ausgeschaltet (Abweichung 56,2%).

Als Kontrollversuch betrachtet, ergibt sich ein durchschnittlicher Wert von 10,55 ccm pro Kilogramm Katze. Anwesend also an reinen Glykosiden: $\frac{120}{10{,}55}$ K.E. $= 11{,}37$ K.E. oder $\frac{11{,}37}{0{,}1832}\% = 62{,}1\%$. Diese Zahl stimmt also befriedigend überein mit dem Wert, welcher durch die indirekte Methode erhalten wurde (66,8%).

d) Wertbestimmung der Restfraktion des Digalens (Bigitalinfraktion).

Es stellte sich schon bei den qualitativen Versuchen (s. oben) heraus, daß dieses Glykosid sehr leicht in unwirksame Bestandteile zerlegt wird. Im Digalen gibt es eine bestimmte Alkoholmenge, welche entfernt werden muß, sonst würde das Digalenbigitalin teilweise in Chloroform übergehen. Zwei Versuche, wobei nur in vacuo auf 60° C gekocht wurde, bis der Alkohol übergegangen war (20 Minuten), ergaben, daß in der Restfraktion nach Chloroformschüttelung nur noch 6% und 11,7% der Totalwirksamkeit zurückgeblieben waren. In Chloroform war dann 66,8% der Wirksamkeit nachweisbar, so daß anzunehmen war, daß schon bei diesem einfachen Eingriff die Restfraktion zerlegt worden war. Hier liegt sicher auch die Ursache, weshalb das Präparat nicht lange aufbewahrt werden kann und keine Erwärmung vertragen kann.

Diese Tatsache ist auch Straub[1] aufgefallen. Das Bigitalin geht in wässeriger Lösung von selbst in unwirksame Zerlegungsprodukte über. Die Flüssigkeit wird sauer[2].

---

[1] Straub, Münch. med. Wochenschr. 1917, Nr. 16, S. 513.

[2] Derselbe, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1917, Bd. 80, S. 52.

Erst Meyer[1], der nicht erhitzte, sondern über Schwefelsäure in vacuo trocknete und dann mit Chloroformäther schüttelte, findet aus Digalen 91,4% zurück, wovon 58,4% chloroformlösliches Glykosid und 41,6% chloroformunlösliches Glykosid.

Wenn ich also durch genaue Wertbestimmungen den Gehalt des Digalens an chloroformlöslichen Glykosiden auf 66,8% feststellte, dann ergibt sich daraus ein Gehalt an Restfraktion im Digalen von 100—66,8% = 33,2%.

Die Zusammensetzung des Digalens ist demnach:

Eiweißfraktion (Digitoxinfraktion)	= 19,4%
Chloroformfraktion (Gitalinfraktion)	= 47,4%
Restfraktion (Bigitalinfraktion)	= 33,2%.

Wie steht es jetzt um die Kumulationsfähigkeit der einzelnen Glykosidfraktionen aus Digalen?

Die Digitoxinfraktion ist in ihrer Wirkung auf das Froschherz ebenso irreversibel wie das Digitoxinum purpureae, sie ist wohl als ein kumulierendes Glykosid zu betrachten, kommt jedoch im Digalen in nicht großen Mengen vor.

Die Restfraktion ist sehr leicht auswaschbar, eine Kumulation im tierischen Organismus ist wohl auszuschließen.

Darum habe ich versucht, zu bestimmen, wieviel von der Gitalinfraktion es nach 2 Tagen noch im Körper gibt.

Nach der in der IV. Mitteilung beschriebenen Methode wurde die halbe tödliche Dosis den Katzen intravenös injiziert und nach 2 Tagen an ihnen eine Wertbestimmung mit dem ursprünglichen Präparate gemacht. Die Differenz zwischen dem jetzt gefundenen Wert und der ursprünglichen tödlichen Dosis ist ein Maßstab für die im Körper zurückgebliebene Menge Glykosid.

Wertbestimmung einer Gitalinlösung aus Digalen.

245,4 ccm Digalen wurden in vacuo bis auf das halbe Volum eingedampft und einmal mit Chloroform geschüttelt. Die hierin gelösten Glykoside wurden in Wasser übergeführt und der wässerigen Lösung wurde viermal Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit und Aluminiumhydroxyd B. hinzugefügt. Nach dem Zentrifugieren war die oben stehende klare Flüssigkeit (= Gitalinlösung) eiweißfrei.

---

[1] E. Meyer, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1917, Bd. 81, S. 261.

Jede Spur des Digitoxinkörpers war also entfernt worden.

In vacuo wurde bis trocken eingedampft, der Rückstand gelöst und mittels Alkohol umkristallisiert. Die alkoholische Lösung des reinen Glykosids wurde vorsichtig mit Wasser verdünnt. Es trat jetzt keine Trübung auf.

Die Gitalinfraktion wurde in 714,4 ccm NaCl 0,9% aufgefangen.

Acht Katzen; D.l. pro Kilogramm Katze bzw.: 10,5 ccm, 13,6 ccm, 22,5 ccm, 20,4 ccm, 17,4 ccm, 14,4 ccm, 17,6 ccm, 18,5 ccm. Mittlerer Fehler: 17,5%. Ausgeschaltet Katzen Nr. 1 und 3. Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze: 17 ccm.

Kumulation nach 2 Tagen von Gitalin aus Digalen.

(D.l. pro Kilogramm Katze: 17 ccm Gitalinlösung.)

Sechs Katzen bekommen in etwa 20 Minuten einen intravenösen Einlauf von 50% der D.l. 48 Stunden nach dem ersten Einlauf wird an diesen Katzen mit ähnlicher Einlaufgeschwindigkeit und mit demselben Präparat die tödliche Dosis bestimmt.

Diese war bzw.: 22,9 ccm, 14 ccm, 9,2 ccm, 20,5 ccm, 13 ccm, 15,2 ccm. Wie in den früheren Kumulationsversuchen werden Katzen, welche mehr als 25% vom Mittel abweichen, ausgeschaltet.

Durchschnittlicher Wert pro Kilogramm Katze (ohne Ausschaltung): 15,8 ccm und nach Ausschaltung von Katzen Nr. 1, 3 und 4: 14,1 ccm.

Um vergleichende Zahlen zu bekommen mit meinen schon beschriebenen (IV. Mitteilung) Kumulationswerten nach 2 Tagen (Glykoside aus Purpurea und Lanata), schalte ich die genannten Katzen bei der Berechnung aus. Durchschnittlich war also in der Katze pro Kilogramm zurückgeblieben: $17 - 14{,}1 \text{ ccm} = 2{,}9 \text{ ccm}$ oder $\frac{2{,}9}{0{,}17}\% = 17\%$ der D.l.

(Dieser Kumulationswert wird, wenn ich nicht ausschalte, 7%.)

Das Glykosid kumuliert also deutlich mehr als das Gitalinum purpureae, wovon nach 2 Tagen gar nichts mehr im Körper nachweisbar ist. Von Gitalinum lanatae (Lanatoxin) ist es auch gewiß verschieden, denn dieses kumuliert nach 2 Tagen 48,4% der D.l. Das Kumulationsvermögen der Gitalinfraktion aus Digalen ist ungefähr ebenso groß wie dasjenige von Lanadigin.

Aus den beschriebenen Versuchen würde man in erster Linie schließen, daß „Digalen Roche“ nicht der Digitalis purpurea entstammt, ebensowenig wie der Digitalis lanata (s. Tabelle S. 124).

Wenn man (in dieser Richtung weiter denkend) mit Sicherheit ausmachen wollte, aus welcher Digitalisvarietät das Digalen hergestellt ist,

Gitalinfraktion aus	Entgiftung durch artfremdes Eiweiß	Hitzebeständig (90° C)	Alkohol-Äther-beständig	Beständig gegen Sättigung mit $(NH_4)_2SO_4$	Kumulation nach 2 Tagen in % der D.l.
Purpurea . . .	nein	nein	nein	nein	0
Lanata	„	„	„	„	48,4
Digalen . . .	ja	ja	ja	ja	17,0

so müßte man natürlich alle bekannten Varietäten in dieser Weise untersuchen. Das war mir leider nicht möglich. Ich bin jedoch in der Lage gewesen, mit Digitalis lutea orientierende Versuche anzustellen, und zwar in derselben Weise, wie im Anfang dieser Mitteilung für das Digalen beschrieben wurde.

Dabei zeigte sich, daß auch aus Präparaten aus Digitalis lutea-Blättern sich zwei Glykoside durch Eiweiß-Ammoniumsulfat aussalzen lassen, während durch Eiweiß-Aluminiumhydroxyd nur ein einziges entfernt wird. Dem Froschherzen gegenüber wird sowohl „Digitoxinum" luteae wie „Gitalinum" luteae durch artfremdes Eiweiß entgiftet. Das dritte Glykosid ist auch bei Lutea sehr labil.

Die Schlußfolgerung liegt also auf der Hand, daß „Digalen Roche" nicht aus Digitalis purpurea oder aus Digitalis lanata hergestellt sei, daß es aber möglich wäre, daß es aus Digitalis lutea stammt. Es ist aber klar, daß wir auf diesem Gebiet sehr vorsichtig sein müssen, besonders weil wir nicht mit reinen Substanzen, sondern mit Fraktionen arbeiten. Zwar wird in den offiziellen Schriften der Firma Hoffman-La Roche immer von Digitalis geredet und bliebe also die Möglichkeit der Verwendung von Digitalis lutea offen, andererseits denkt doch die ganze pharmazeutische und medizinische Welt nur an Digitalis purpurea, wenn von „Digitalis" die Rede ist. Sollte also — was nur die herstellende Firma mitteilen kann — für die Herstellung von Digalen doch von Digitalis purpurea ausgegangen werden, so würden hier sehr merkwürdige Tatsachen vorliegen, welche nur durch weitere Untersuchungen geklärt werden könnten. Es ließe sich z. B. die Möglichkeit denken (welche aber wenig wahrscheinlich ist), daß es Untervarietäten von Digitalis purpurea gibt, deren Glykoside andere sind als die der meistens verwendeten Art. Oder es ließe sich denken, daß Mischvarietäten zwischen Digitalis purpurea und Digitalis lutea bestehen, welche äußerlich als Digitalis purpurea erscheinen, jedoch die Glykoside der Digitalis lutea enthalten. Schließlich wäre es auch denkbar, daß bei der Herstellung des Digalens die Glykosidfraktionen der Digitalis purpurea in solcher Weise behandelt werden, daß sie die Eigenschaften der Luteafraktionen bekämen. Das würde dann wieder dem

Unterschied zwischen den Glykosiden der verschiedenen Digitalisvarietäten den festen Boden entnehmen, usw. Wie gesagt, ist hier allererst das Wort an der Firma Hoffman-La Roche. Erst nachdem diese sich ausgesprochen hat, können weitere Versuche einsetzen.

Zusammenfassung.

Aus Digalen können drei Glykosidfraktionen isoliert werden und es läßt sich ihr Mengenverhältnis bestimmen.

Qualitativ stimmen diese Fraktionen nicht mit denen aus Digitalis purpurea und aus Digitalis lanata überein.

Wohl wurde eine — insofern untersucht — vollkommene Übereinstimmung zwischen den Glykosiden aus Digalen und denen aus Digitalis lutea beobachtet. Verschiedene Möglichkeiten lassen sich hier denken.

Overzicht van den inhoud.

Het uitgangspunt dezer onderzoekingen vormde de waarneming (hoofdstuk I), dat Digitoxine, bij aanwezigheid van natieve zoogdiereiwitten voor het kikkerhart ongiftig is. Bij nadere bestudeering van dit verschijnsel bleek, dat het zoowel voor kikkerharten als voor zoogdierharten opging, met dien verstande dat ontgiftiging van het Digitoxine voor een bepaald hart alleen plaats vond door voor dit hart soortvreemd eiwit, terwijl aanwezigheid van soorteigen eiwit de werking van Digitoxine in het geheel niet beinvloedde.

Het bleek, dat er een physische adsorptiebinding optreedt tusschen eiwit en Digitoxine, welke binding op verschillende wijzen weer is op te heffen.

Een dergelijke binding gaat het Digitoxine aan met verschillende eiwitten, echter wordt het Digitoxine alleen door de natieve genuine eiwitten volmaakt gebonden; geinactiveerde eiwitten, kippeneiwit en caseine binden het glucoside slechts gedeeltelijk; gecoaguleerde eiwitten binden in het geheel niet.

Op dezelfde wijze als Digitoxine gedragen zich ten opzichte van de eiwitten één glucosidefractie uit Digitalis lanata en twee fracties uit Digitalis lutea (Hoofdstuk VII). De andere glucosiden uit D. purpurea, D. lanata en D. lutea worden niet door eiwit gebonden.

Er doet zich nu de vraag voor, waarom het hart wel vergiftigd wordt door Digitoxine, gebonden aan soorteigen eiwit, terwijl het, aan soortvreemd eiwit geklonken, voor het hart onschadelijk is. Van de verschillende hier denkbare verklaringen (Hoofdstuk II) kon er slechts één den toets van onze kritiek doorstaan: aan de hand van proeven met brilliantkongorood werd aannemelijk gemaakt, dat het komplex Digitoxine-soorteigen eiwit door het hart in zijn geheel wordt opgenomen, terwijl het komplex Digitoxine-soortvreemd eiwit niet in normale harten kan binnendringen, wel in harten welke met alkohol vergiftigd zijn. Voor anaphylactische harten is de digitoxine-ontgiftigende werking van het antigeeneiwit eveneens opgeheven.

Ik gebruikte juist het brilliantkongorood, omdat deze kleurstof zich eveneens aan eiwit quantitatief bindt.

De gevolgtrekking, dat het hart in staat is digitoxine gebonden aan soorteigen eiwit op te nemen, sluit in zich, dat het hart ook permeabel moet zijn voor soorteigen eiwit alleen.

Naast deze algemeen-pharmacologische onderzoekingen werden van hetzelfde uitgangspunt uitgaande pharmaceutische onderwerpen be-

studeerd (Hoofdstuk III). De binding aan eiwit van Digitoxine en overeenkomstige fracties uit de andere Digitalis-varieteiten leverde de mogelijkheid, deze Digitoxine (eiwit-) fracties van de overige glucosiden te scheiden, en quantitatief met biologische methoden te bepalen. In het blad van Digitalis purpurea bevinden zich nog twee glucosidefracties, die door chloroform te scheiden zijn en afzonderlijk kunnen worden bepaald. In het blad van Digitalis lanata werden op dezelfde wijze drie overeenkomstige fracties opgespoord, bovendien bleek hier nog een vierde glucoside-fractie aanwezig te zijn. In Digitalis lutea bevinden zich twee fracties die zich aan eiwit binden, welke op een bijzondere wijze konden worden gescheiden (Hoofdstuk VII). Daarnaast bevat de D. lutea nog één andere, zeer labiele, glucosidefractie. Op deze wijze gelukte het de samenstelling van de gebruikelijke galenische preparaten afkomstig van Digitalis purpurea en Digitalis lanata (Hoofdstuk III) en van Digaleen (Hoofdstuk VII) te analyseeren.

De verkregen analyses wijzen er op dat er in het blad van het Vingerhoedskruid een grootere hoeveelheid werkzame bestanddeelen zit, dan tot nu toe werd aangenomen, en wel in het bijzonder meer bigitaline.

De aandacht valt vooral op het feit, dat de verschillende galenische bereidingen zeer wisselende totale hoeveelheden werkzame stof aan het blad onttrekken, en bovendien de onderlinge verhouding der glucosidefracties zeer uiteenloopt. Daaruit blijkt, dat men niet klakkeloos de galenische preparaten aan elkaar gelijk mag stellen.

Toen eenmaal de samenstelling der galenische preparaten opgespoord was, kon een poging worden gedaan om hieruit het verschillende cumulatievermogen der galenica te verklaren (Hoofdstuk IV). Daartoe werd de cumulatie na 2 dagen van ieder der fracties bepaald en door eenvoudige berekening tot het cumuleerend vermogen der oorspronkelijke preparaten besloten. De zoo verkregen cijfers konden worden vergeleken *met de cumulatiewaarden door van Esveld direct bepaald van dezelfde monsters. Daarbij bleek, dat niet in allen deele overeenstemming* bestond tusschen de empirisch gevonden en de berekende waarden. Wel *was duidelijk, dat de onderlinge* verschillen tusschen de galenica van eenzelfde bladpoeder door hun verschillend glucosidegehalte in principe verklaard konden worden. *Bij alle galenica van D. purpurea bleek* evenwel, dat de cumulatie van het oorspronkelijke product aanmerkelijk hooger lag dan door het glucosidegehalte verklaard kon worden. Bij de galenica van D. lanata leverde deze berekening een hooger cumuleerend vermogen dan het direct gevondene voor wat betreft het infuus en den liquor, terwijl bij de tinctuur het tegenovergestelde geconstateerd werd.

Deze bevindingen gaven aanleiding tot het vermoeden, dat in de galenica bepaalde stoffen aanwezig moesten zijn, welke het cumuleerend vermogen mee bepalen. Het hierop volgende onderzoek (Hoofdstuk V) bracht aan het licht, dat aan de Saponinen die in het blad van Digitalis purpurea aanwezig zijn een dergelijke invloed toekomt. Het bleek namelijk, dat hooge concentraties van saponinen (hooger dan in de galenica voorkomen) de acuut doodelijke werking der digitalisglucosiden verhoogen, terwijl concentraties zooals deze in de galenica worden aangetroffen de acute giftigheid niet beinvloeden, doch wel een belangrijke vermeerdering van het cumulatieve vermogen van Digitalis- en Strophanthus-glucosiden veroorzaken.

Het is dus zaak, met de aanwezigheid der Saponinen ter dege rekening te houden: van hunne aanwezigheid hangt de resorptie in het darmkanaal den deele af, doch ook hebben zij na resorptie (welke bij enteritis verhoogd is) nog dezen invloed, dat ze de acute giftigheid van de glucosiden niet beinvloeden, terwijl toch de duur van de werking door hen wordt verlengd.

De gevonden invloed der Saponinen verklaart de waargenomen verschillen tusschen direct bepaald en berekend cumulatievermogen der galenica voor een groot deel, doch niet geheel. Bij D. lanata komt deze verklaring zelfs niet in aanmerking, aangezien hier geen echte Saponinen door mij gevonden zijn.

Bij de lanataproducten moet eerder worden gedacht aan een stof die de cumulatie tegen gaat, terwijl aanwijzingen bestaan, dat ook in de purpureaproducten een dergelijke remmende stof aanwezig moet zijn. In Hoofdstuk VI wordt aangetoond, dat het de slijmachtige substanties zijn welke na intraveneuse toediening de cumulatie der glucosiden remmen.

Met behulp van de aldus opgespoorde invloed der bijkomstige stoffen (met name Saponinen en slijmachtige stoffen) kan men ongedwongen het cumulatieve vermogen van alle galenische preparaten van *D. purpurea en D. lanata verklaren.*

Het bleek verder, dat men de anders niet uitwaschbare Digitoxine met behulp van deze slijmachtige stoffen onder bepaalde voorwaarden uit het kikkerhart kan wasschen.

Tenslotte werd in Hoofdstuk VII een poging gedaan, om ook uit een specialité de glucosidefracties te isoleeren. Daartoe werd Digaleen gekozen. Het bleek, dat de verkregen fracties andere eigenschappen bezitten dan de fracties uit Digitalis purpurea en die uit Digitalis lanata. Wel bleek een — voor zoover onderzocht volkomen — overeenstemming te bestaan met de glucosidefracties die uit Digitalis lutea werden bereid.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

1.6861.

STELLINGEN.

1. Toename van bepaalde corpusculaire bloedbestanddeelen wordt mede veroorzaakt door stoffen, welke vrij komen als deze elementen in het lichaam te gronde gaan.

2. Cirrhosis hepatis is een ziekteproces, waarbij reticulo-endotheelcellen in de lever zich tot een blijvend bindweefselnet ontwikkelen.

(De Haan. Archiv f. Exp. Zellforschung Bd. VII, H. 3, S. 298. 1928).

3. De Kupfersche stercellen in de lever vormen een labiel systeem. Voortdurend gaan stercellen te gronde of worden deze weder in de bloedbaan afgestooten. Dit verlies wordt aangevuld, doordat monocyten uit het bloed in de lever als Kupfersche stercel worden vastgehouden.

(De Haan und Hoekstra. Archiv f. Exp. Zellforschung Bd. V, H. 1/2, S. 35. 1927).

4. De behandeling der acute pyelitis infantum, volgens de door Aron aangegeven regelen, mag als rationeel worden beschouwd.

(Aron. Deutsch. Med. Wochenschr. 1925. 51).

5. De voorbereiding van operaties bij toxische strumae, geschiede op de door Plummer aangegeven methode en onder contrôle van de grondstofwisseling.

6. Bij toename van het niet diffusibele deel van het serum-calcium, verdwijnen de symptomen van tetanie.

(Zainal, Bendien and Snapper. Acta Brevia Neerlandica de Physiol. usw. Vol. I. 3. 1931).

7. Het voorkomen van choreatische bewegingen bij aandoeningen van de hersenschors, pleit niet tegen een localisatie van dergelijke mechanismen in den Globus Pallidus.

(Kinnier Wilson. Modern Problems of Neurol. P. 140).

8. Het gebruik van Lipjodol en Jodipin om diagnostische redenen, moet zoo veel mogelijk worden beperkt.

Bruskin und Propper. Zeitschr. f. Exp. Med. Bd. 75, H. 1/2, S. 34. 1930).

9. Wil men operatief ingrijpen tegen sympatische ingewandspijnen, dan verrichte men een circulaire omsnijding der betrokken spinaalzenuw op haar uittredingsplaats uit het foramen intervertebrale.

(Van Andringa. Thèse. Montpellier 1931).

10. Een deel der gevallen van coloboma maculae moet beschouwd worden als berustend op lidteekenvorming na een ontstekingsproces.

(Mann. British Journ. of Ophthalmology. Vol. XI. S. 97. 1927).