(Aus dem physiol. Laborat. der Yale Medical School, New Haven, Conn.)

Ueber den Einfluss minimaler Mengen Nebennierenextracts auf den arteriellen Blutdruck.

Von

Prof. **Benjamin Moore** und Dr. med. **C. O. Purinton.**

(Hierzu Tafel IV.)

Nachfolgende Untersuchungen sind zunächst unternommen worden, um die geringste Menge Nebennierenextracts zu finden, welche noch eine deutliche Blutdruckerhöhung hervorruft. Solch eine Beobachtung hat doppeltes Interesse: einmal an sich selbst, dann aber auch als Controlversuch für die sich mit der Isolation der wirksamen Substanz der Nebennieren beschäftigten Experimente. Es erscheint unzweifelhaft, dass die eigentlich wirksame Substanz der Nebennieren nur einen geringen Bruchtheil des Rohauszuges ausmacht, und man muss demnach erwarten, dass ein reines Präparat dieser Substanz verhältnissmässig viel wirksamer ist als der Rohauszug. Nehmen wir z. B. an, dass der wässrige Extract, nach Entfernung der Eiweisskörper, 10 % der wirksamen Substanz enthält, dann muss eben die reine Substanz, Gewicht für Gewicht, zehnmal grösseren Einfluss besitzen als der Drüsenauszug, oder ein gleicher Effect müsste mit $\frac{1}{10}$ der Dose des reinen wirksamen Körpers erhalten werden.

Wenn nun aber Substanzen aus der Drüse isolirt werden, welche die oben erwähnte Eigenschaft nicht besitzen, so kann dies nur in einer von zwei Ursachen seinen Grund finden: entweder nämlich darin, dass durch irgend welche chemische Veränderungen die wirksame Substanz in eine weniger wirksame verwandelt worden ist, oder dass überhaupt nur ein geringer Procentsatz der Substanz isolirt wurde, die mit einer grösseren Menge eines unwirksamen Körpers vermischt ist, also kein einheitliches Product darstellt.

Diese zweite Auffassung erscheint wahrscheinlicher, da die erste die Anwesenheit anderer chemischer Individuen, die aus der wirksamen

Substanz gebildet sind, annimmt, eine Ansicht für die zunächst gar keine Beweise vorliegen. —

Bis es also gelungen ist, zu zeigen, dass zwei oder mehr Substanzen in der Nebenniere vorkommen, die verschiedene Grade von Wirksamkeit besitzen, ist man wohl berechtigt anzunehmen, dass derartige Producte aus einer Mischung von grösseren oder geringeren Mengen der wirksamen Substanz mit anderem unwirksamen Material bestehen.

Diese Ansicht gewinnt aber weiterhin noch an Wahrscheinlichkeit, wenn man berücksichtigt, dass derartig isolirte Substanzen gewöhnlich durch sehr allgemeine Methoden gewonnen werden, bei denen eine ganze Anzahl organischer Substanzen zu Boden gerissen werden, wie z. B. Benzoylirung oder Niederschlag mit Salzen schwerer Metalle. Aus einem derartigen complicirten Niederschlag ist es natürlich viel schwieriger, eine Substanz zu isoliren, als wenn sie im Filtrat zurückbliebe. —

Nun hat man schon seit längerer Zeit den Werth des physiologischen Experiments als Controlversuchs der chemischen Isolirung anerkannt. Eigenthümlicherweise hat aber noch niemand quantitative Beobachtungen der relativen Wirksamkeit des Extracts und der sogenannten isolirten reinen Substanzen angestellt. Die sich damit beschäftigenden Autoren begnügen sich einfach anzugeben, dass ihre reine Substanz sehr wirksam sei, oder dass eine gewisse Dosis derselben einen gewissen Eindruck auf den Blutdruck besitze, von Vergleichen mit dem Rohauszug der Drüse ist nirgends die Rede. Dieses physiologische Experiment gewinnt nun aber noch an Werth, wenn man bedenkt, zu wie wenig befriedigenden Resultaten die chemischen Untersuchungen bis jetzt geführt haben. Es ist noch nicht gelungen, ein krystallinisches Product darzustellen, keins mit constantem Schmelzpunkte, keins, bei dem das Molekulargewicht chemisch oder physikalisch bestimmt worden ist, ja schliesslich noch keins, bei dem die Elementaranalyse zweier verschiedener Ausbeuten sich bei zwei vollständigen Analysen constant erwiesen hätte. Es finden sich nur Analysen amorpher Niederschläge, die von complicirten Mischungen organischer Niederschläge durch Benzoylirung oder Acetylirung erhalten wurden, welche nicht einmal mit den angenommenen theoretischen Formeln übereinstimmen. So gibt z. B. Abel (Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 28 1899 S. 323) seinem benzoesauren Epinephrin die Formel $C_{17}H_{14}NO_4 \cdot CO \cdot C_6H_5$, während

seine analytischen Resultate zur Formel $C_{17}H_{17}NO_4 \cdot CO \cdot C_6H_5$ führen. Das ist ein Unterschied von drei Wasserstoffatomen und also eine unmögliche Formel auf Grund des Autors theoretischer Ansicht. Noch weitere Unterschiede zwischen gefundenen und berechneten Resultaten finden sich in den Analysen der freien Base Epinephrin, wo zwei so weit auseinandergehende Wasserstoffanalysen wie 5,24 und 6,09 % als identisch und für die Formel beweisend angesehen werden.

Aus allem diesem ersieht man zur Genüge, wie unzureichend der chemische Beweis für die Reinheit derartig isolirter Substanzen ist, und das physiologische Experiment zeigt uns deutlich, wie falsch es ist, eine isolirte Substanz als wirksames Princip zu betrachten, wenn sie bedeutend weniger wirksam als der Rohauszug der Drüse ist.

Unsere Versuche haben aber gerade ergeben, dass der Rohauszug bedeutend kräftiger wirkt, als irgend ein bis heute isolirter und als wirksame Substanz der Nebennieren beschriebener Körper. Weiterhin stellte sich noch die interessante Thatsache heraus, dass ausserordentlich geringe Mengen des Extracts eine deutliche Herabsetzung des Blutdrucks zur Folge haben. Dosen, welche zwischen einer den Blutdruck erhöhenden und einer den Blutdruck herabsetzenden Menge liegen, rufen eine Erhöhung mit bedeutendem Fall hervor. Man erhält diese Resultate bei demselben Thiere durch sehr bedeutende Verdünnung desselben Rohauszugs, mit dem die gewöhnliche Blutdruckerhöhung erzielt wird. —

Zur Methode.

Die Rohauszüge wurden in der Mehrzahl der Fälle aus den Nebennieren des Ochsen dargestellt, einige Male kamen auch Drüsen von Schafen zur Verwendung. Zunächst wurde das Organ in zwei Hälften geschnitten, und die Medulla herausgeschabt, wobei ein Berühren mit der Rinde möglichst vermieden wurde. Die kleinen Stückchen Medulla wurden nun mit einer das Zehnfache ihres Gewichtes betragenden Menge destillirten Wassers gekocht, dem einige Tropfen Essigsäure zugesetzt worden waren. Auf diese Weise bringt man das Eiweiss zur Gerinnung und erhält ein klares, farbloses Filtrat, welches kein Eiweiss und nur einen geringen Procentsatz organische Substanz enthält. Dieses Extract verdünnt man, um 1:100 und 1:1000

Auszüge zu erhalten. Den letzteren benutzten wir, um die minimale wirksame Dosis zu entdecken.

Die Menge organischer Substanz im Medullarextract wurde durch Verdampfen, Wiegen, Verbrennen und Wiederwiegen, wie üblich, bestimmt. Es liess sich so die Menge der eingespritzten organischen Substanz und weiterhin die Menge per Kilo Körpergewicht bestimmen.

Neben den Experimenten, welche mit dem reinen Rohauszug ausgeführt wurden, haben wir uns noch mit Untersuchungen eines modificirten Auszugs beschäftigt, in dem nämlich eine gewisse Menge unwirksamen Materials entfernt worden war, und der ungefähr 4 Mal wirksamer als der Rohextract ist. Dieser modificirte Auszug, welcher das wirksamste Material, das bis jetzt aus den Nebennieren gewonnen worden ist, darstellt, wurde auf folgende Weise bereitet: Dem, wie oben beschriebenen, nach Niederschlag des Eiweisses erhaltenen noch warmen Filtrat, wird eine 10 % Bleiacetatlösung hinzugefügt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Man erhält so einen voluminösen flockigen Niederschlag, der sich leicht abscheidet und in Wasser suspendirt mit H_2S zerlegt wird. Nach der Filtration wird der Ueberschuss H_2S durch Erhitzen verdrängt und die Lösung zum physiologischen Versuche bei Seite gestellt. Man kann nun in dieser Lösung leicht nachweisen, dass das ursprünglich niedergeschlagene Material wieder in Lösung gegangen ist, da man durch Bleiacetat wieder einen erheblichen Niederschlag gewinnt. Das erste Filtrat, was man also nach der ersten Bleiacetathinzufügung erhielt, wird ebenfalls durch H_2S bleifrei gemacht, der Ueberschuss H_2S verdunstet und nun eine Portion zur physiologischen Untersuchung mit kohlensaurem Natron neutralisirt. In einer zweiten Portion wird nach Verdampfen der organische Rückstand, wie oben angegeben, bestimmt.

Es zeigt nun der physiologische Versuch, dass die durch Bleiacetat erhaltene Substanz vollständig wirkungslos ist, während das Filtrat die ganze Wirksamkeit der ursprünglichen Lösung besitzt, obgleich es nur $\frac{1}{4}$ der organischen Trockensubstanz enthält. Dieses Material besitzt viele Male die Wirksamkeit der von anderen als wirksames Princip der Nebennieren isolirten Substanzen. Bis jetzt haben wir leider noch nicht genügend Material zur Hand gehabt, um eine Elementaranalyse zu gestatten. Aber wir wissen bereits, dass es das Chromogen enthält und seine Wirksamkeit langsam beim Stehen verliert. Dabei ist es von Interesse, dass die physiologische

Wirkung lange vergeht, ehe die chromogene Eigenschaft sich verliert, was die schon früher von Moore (Journal of Physiology vol. 21 1899 p. 383) ausgesprochene Ansicht bestätigt, dass nämlich die Wirksamkeit nicht von der chromogenen Gruppe abhängt, sondern dass das wirksame Molecül ein sehr zusammengesetztes ist, in welchem die chromogene Gruppe einen Rest bildet.

Resultate.

Es sind von uns sieben vollständige Untersuchungen an Hunden ausgeführt worden, wobei jedes Thier von 10 bis 20 Einspritzungen bekam. Das Thier wurde mit Chloroform anästhesirt und die Vagi wurden mit Atropin paralysirt. Der Extract wurde in eine Beinvene injicirt, der Blutdruck an der Carotis gemessen, wobei fortlaufende Zeit und der Moment der Injection mit registriert wurden.

Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass Nebennierenextract des Ochsen in Dosen zwischen 0,245 bis 24 Millionstel eines Grammes per Kilo Körpergewicht im Hunde eine deutliche Blutdruckveränderung hervorruft, die erste Dosis eine Herabsetzung, die zweite eine Erhöhung. Eine Dosis, welche zwischen 5 bis 10 Millionstel eines Grammes per Kilo Körpergewicht liegt, gibt gewöhnlich eine reine Erhöhung von 20—40 mm Quecksilber. (Siehe Fig. 122.) Diese Dosen des einfachen wässrigen, nach Entfernung des Eiweisses erhaltenen Auszugs, sind bedeutend geringer, als die des Epinephrins und Suprarenins, welche eingespritzt werden müssen, um gleiche Blutdruckveränderungen hervorzubringen. (Abel, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 28, 1899, S. 318; v. Fürth, Ibid. Bd. 29, 1900, S. 105, auch Bd. 24, 1897, S. 142; Bd. 26, 1898, S. 15.) Von dem Abel'schen pikinsaurem Epinephrin waren 160 Millionstel g per Kilo Körpergewicht nothwendig, um den Blutdruck des Hundes 46 mm zu heben, vom Bisulphat hoben 18 Millionstel den Blutdruck 16 mm, und dies war das wirksamste Präparat. Das Eisenpräparat des Suprarenins v. Fürth's hob in einer Dose von 37 Millionstel g per Kilo Körpergewicht den Blutdruck um 24 mm, eine Dosis von 75 Millionstel g 66 mm. Dies wurde beim Kaninchen erhalten. Beim Hunde hoben 17 Millionstel eines Grammes per Kilo Körpergewicht den Blutdruck 46 mm. Dagegen haben wir nun aber gefunden, dass beim Hunde eine Einspritzung von 7 Millionstel g des einfachen Medullaextracts eine Erhöhung von 23 mm, und 12 Millionstel g eine solche von 42 mm hervorruft.

Der einfache Rohextract ist also kräftiger als die sogenannten isolirten Substanzen, und man geht wohl nicht fehl, wenn man deren Wirkung überhaupt nur auf eine grössere oder geringere Beimischung des wirksamen Principis bezieht, welches beim Niederschlagen rein mechanisch zu Boden gerissen wird. Waren die oben genannten Präparate schon früher mit dem Rohauszug in relativer Wirksamkeit verglichen worden, so wären sie wohl kaum je als Reinproducte der wirksamen Substanz der Nebennieren angesprochen worden. v. Fürth geht sogar so weit, anzugeben, dass die Identität der blutdruckerhöhenden Substanz mit der chromogenen Gruppe, welche mit Eisenchlorid eine grüne Farbe anschlägt, als bewiesen anzusehen ist. Auch dieses müssen wir nach obigen, sowie an anderer Stelle gemachten Erfahrungen abweisen. Moore hat schon früher (vide supra l. c.) darauf hingewiesen, dass die die grüne Farbe gebende Gruppe wohl einen Theil des activen Molecüls bilde, aber mit der Wirksamkeit selbst nichts zu thun habe.

In Dosen von 1—3 Millionstel g per Kilo Körpergewicht des Medullaextracts, erhielten wir eine kurze Erhöhung, die von einer bedeutenden Erniedrigung gefolgt war. (Fig. 3 und 4.) Eine noch geringere Menge gab nur eine Erniedrigung, welche jedoch nicht so ausgesprochen war als bei einer etwas grösseren Dose, der die Erhöhung vorausging.

Bei zwei der sieben Thiere war es unmöglich, die oben beschriebene Blutdruckerniedrigung zu erhalten; während die Dose vermindert wurde, wurde die gewöhnliche Erhöhung submaximal und verschwand langsam, ohne einen Punkt mit charakteristischem Fall. (Siehe Fig 5.) Bei den anderen Thieren gelang das Experiment jedes Mal.

Das Ausbleiben der Blutdruckerniedrigung in diesen Fällen können wir zunächst nicht erklären; möglicherweise hing es von der Unmöglichkeit, gerade die richtige Dose zu finden, ab, oder aber, wie weiter unten ausgeführt werden soll, von der verschiedenen Wirksamkeit der eignen Nebennieren dieser Thiere. Wir haben auch noch nicht untersucht, ob der Fall im Blutdruck, analog der Erhöhung, ein peripherer ist.

Es erscheint uns aber wahrscheinlich, dass dieselbe Substanz, welche den Blutdruck erhöht, auch für den Fall verantwortlich ist. Nun hat Hunt zwar (Proceedings Amer. Physiol. Soc. 1899 in Amer. Journ. of Physiol. Vol. III) neuerdings eine Substanz aus den

Nebennieren erhalten, welche den Blutdruck nur vermindert. Wenn man das annimmt, so folgt, dass ein Körper, welcher in so infinitesime kleinen Dosen, wie wir hier benutzten, wirksam ist, in grösserer Menge der blutdruckerregenden Substanz gegenwirkt. Weiterhin müsste man auch erwarten, dass, wenn der Rohextract zwei Körper enthält, die eine gegenseitig verschiedene Wirkung äussern, diese gleich verdünnt werden können, und es ist deshalb schwer verständlich, wie die blutdruckherabsetzende Substanz in kleinen Dosen so viel stärker, als die blutdruckerregende wirken soll.

Man kann deshalb wohl diese beiden Erscheinungen als Wirkungen einer Substanz betrachten, welche, wie andere uns längst bekannten Medicamente, in kleinen Dosen den Blutdruck herabsetzend, in grossen einen ihn erhöhenden Einfluss besitzt.

Wenn diese Ansicht sich als die richtige erweisen sollte, so würde eine interessante functionelle Frage entstehen, ob nämlich der Einfluss der Nebennierensecretion auf den Organismus von der Menge abhängt: eine geringe Menge würde eine Muskeler schlaffung, grösser als die durch gar keine Secretion entstandene, hervorrufen, eine grössere Menge einen vermehrten Muskeltonus zur Folge haben.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Einfluss der intravenösen Einspritzung von 24 Millionstel Gramm per Kilo Körpergewicht beim Hunde (12,5 kg schweres Thier unter Morphin und Atropin. Obere Curve Carotidenblutdruck, die zweite: Injectionssignal, die dritte: Zeit in Secunden, und die vierte: 0 Blutdruck.

Fig. 2. Einfluss von 12 Millionstel Gramm per Kilo Körpergewicht bei demselben Thiere.

Fig. 3. Einfluss von 2,4 Millionstel Gramm per Kilo Körpergewicht bei demselben Thiere.

Fig. 4. Einfluss von 1,2 Millionstel Gramm per Kilo Körpergewicht bei demselben Thiere.

(Fig. 1—4 bilden ein Experiment, um den Effect langsam abnehmender Dosen zu zeigen. Der Einfluss auf den Blutdruck dieses Thieres konnte nachher beliebig wiederholt werden.)

Fig. 5. Einfluss von 4,25 Millionstel Gramm per Kilo Körpergewicht bei einem der zwei Thiere, bei denen die typische Blutdruckerniedrigung

nicht erhalten wurde. Selbst nach geringen Dosen vermochten wir einen grösseren Fall nicht zu erzielen.

Fig. 6. Einfluss von 27 Millionstel Gramm per Kilo Körpergewicht des Filtrats nach Niederschlagen des Auszugs mit Bleiacetat. Die erste der drei geringen Erhöhungen wurde durch eine zufällige Bewegung der Venen-cantüle bedingt, durch welche eine geringe Menge einfloss, die zweite und dritte Erhöhung war das Resultat der Auswaschung der Cantüle mit normaler Salzlösung.

Fig. 7. Einfluss von 2,7 Millonstel Gramm per Kilo Körpergewicht; zeigt die grosse Wirksamkeit des Filtrats nach Niederschlagung mit Bleiacetat.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

...

...

...

...

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 4.

...

...