Über Cymarin.

Von

Mikizo Kuroda.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

Mit 2 Textfiguren.

(Eingegangen am 15. Mai 1914.)

Das Cymarin ist eine Reinsubstanz einheitlicher Zusammensetzung von Digitaliswirkung und chemischem Digitalischarakter. Praktisch scheint es ein brauchbares Ersatzmittel für die Substanzen der Folia Digitalis werden zu können, so daß die Erforschung seiner pharmakologischen Eigenschaften angezeigt erscheint, wozu Impens¹⁾ in vielen Punkten schon den Anfang gemacht hat. Auf Veranlassung von Prof. W. Straub habe ich folgende Punkte der Pharmakologie des Cymarins studiert.

1. Wertbestimmung.

Ich habe die Wertbestimmung nach der bekannten auf Cushny zurückgehenden sog. Einstundenmethode von Lyons und Famulener²⁾ durchgeführt. Diese Methode besteht bekanntlich darin, daß am gänzlich intakten, also nicht einmal aufgebundenen Tier, diejenige minimale Giftmenge pro Gramm Frosch ermittelt wird, die in genau einer Stunde eben gerade den sog. systolischen Stillstand des Froschherzens herbeiführt. Zu diesem Zweck wird eine Serie möglichst gewichtgleicher Tiere (ich verwandte kleine Esculenten, denen ich stets 0,5 ccm Giftlösung in gleichen Teilen à 0,25 ccm in die Lymphsäcke beider Oberschenkel injizierte) mit aufsteigenden Mengen Cymarin vergiftet und die ganze Serie der Reihe nach genau eine Stunde später geöffnet und der Vergiftungszustand des Ventrikels bestimmt. Der Grenzwert ist mit hinreichender Sicherheit zu ermitteln, der Ventrikel muß weiß, kontrahiert, sein, der Vorhof pflegt noch zu pulsieren. Mechanische Reizung des Vorhofes darf keine Diastole des Ventrikels mehr zur Folge haben. Nach meiner Erfahrung, die auch diejenige von Prof. Straub ist, tut man gut, nach dem Eröffnen des Thorax besonders dann 1—2 Minuten mit der Beurteilung des Herzens zu warten, wenn man

¹⁾ E. Impens, Archiv f. d. ges. Physiol. **153**, 239. 1913.

²⁾ Lyons and Famulener, Proc. Amer. Pharmaceut. Associat. Philadelphia **50**, 415. 1902.

das Tier vorher dekapitiert und das Rückenmark ausgebohrt hatte. Bei dieser Prozedur treten nämlich, besonders beim Grenzwert, durch die mechanische zentrale Vagusreizung¹⁾ wieder Diastolen auf, die einen kurzdauernden Rhythmus veranlassen. Das Herz verfällt aber dann sehr bald wieder in den Zustand, der der in ihm herrschenden Digitalisvergiftung entspricht.

Die Einstundenmethode liefert natürlich, ebenso wie alle anderen physiologischen Wertbestimmungen von Digitalissubstanzen, nur Relativitätswerte, aber in einer die Nebenumstände der Resorption und Resorptionsstörung durch Präparation am besten vermeidenden Weise.

Ich bestimmte so die Wirksamkeit des Cymarins zu 0,000002 g pro Gramm Esculenta. (Einzelheiten siehe in der Tabelle.)

Tabelle I.

Versuch	Dose pro 1 g im g	Zeit	Resultat am Ventrikel
I	0,0000001	1 Std.	— Normaler Rhythmus
II	0,0000005	„	— Peristaltische Bewegung
III	0,000001	„	— } Stark verlangsamter Rhyth-
IV	0,0000015	„	— } mus
V	0,0000015	„	+ Systol. Stillstand
VI	0,0000015	„	— Stark verlangsamter Rhythmus
VII	0,000002	„	+
VIII	0,000002	„	+
IX	0,0000025	„	+
X	0,0000025	„	+
XI	0,0000025	„	+
XII	0,000005	„	++ } Systol. Stillstand

Zum Vergleich führe ich die Werte an, die für verschiedene Digitalissubstanzen von W. Hale²⁾ mit der gleichen Methode bestimmt wurden:

Strophanthin Merck (Kombé)	0,0000011 g pro g Frosch
Convallamarin (Merck)	0,0000047 g „ „ „
Digitoxin (Merck) krist.	0,0000085 g „ „ „
Digitalin gallicum Merck (= unreines Digi-	
toxin)	0,000013 g „ „ „
Digitalinum germanic. (= 50% Digitonin	
+ Digitalin. verum)	0,00007 g „ „ „
Fol. Digitalis purpurea (10% Tinct.) (auf	
Foliagewicht berechnet)	0,005 g „ „ „

¹⁾ Vgl. dazu R. Boehm, Archiv f. d. ges. Physiol. 5. 1872.

²⁾ Worth Hale, Physiolog. Standardization of Digitalis. U. S. Publ. Health. Service: Bull. 74. 1911.

Das Kombé-Strophanthin ist von allen überhaupt bekannten Digitalisglykosiden das wirksamste, das Cymarin steht ihm mit 0,000002 g nach meinen Messungen sehr nahe, es gehört quoad Wirksamkeit also in die Strophanthingruppe und nicht in die Gruppe der viel weniger intensiv wirksamen Glykoside der *Folia Digitalis purp.*

2. Verhalten zum Cholesterin.

Die Windaussche Reaktion der Bildung eines wasserunlöslichen Niederschlages (Cholesterid) beim Zusammentreffen von Cholesterin und Saponin (Digitonin) wird von den echten, spezifisch wirksamen Digitalisglykosiden, die auch sonst keine Saponineigenschaften zeigen, nicht gegeben¹⁾. Da Saponineigenschaften der Digitaliskörper, wie sie z. B. das Helleborein noch zeigt (Karaulow), therapeutisch unerwünscht sind, prüfte ich das Verhalten des Cymarins zum Cholesterin. Das Ausbleiben der sichtbaren Niederschlagsbildung beim Zusammentreffen von Cymarin und Cholesterin ist für meine Fragestellung an sich nicht beweisend für das Fehlen der Reaktion überhaupt, denn es wäre denkbar, daß sich ein wasserlösliches und dann wohl stark reversibles Cholesterid bilden könnte²⁾. Die Existenz eines derartigen Cholesterids könnte die physiologische Prüfung aufdecken.

Nach dem auf Riesenfeld und Lumerzheim (l. c.) zurückgehenden Verfahren von E. Oppenheimer³⁾ stellte ich mir kolloidale Lösungen von Cholesterin in der Weise her, daß ich alkoholische Lösungen von Gallensteincholesterin mit Ringerscher Lösung solange verdünnte, bis eine opalescente Trübung entstand, wobei gleichzeitig der Alkohol auf unwirksame Konzentration verdünnt wurde. In diese Cholesterin-„Lösung“ brachte ich solche Mengen Cymarin, wie sie zur Herbeiführung deutlicher Wirkung wie der Frequenzhalbierung und des systolischen Stillstandes in der Versuchsanordnung nach W. Straub am ausgeschnittenen suspendierten Froschherzen eben nötig sind und verfolgte die Wirkung unter graphischer Registrierung. Es stellte sich heraus, daß das Cholesterin den physiologischen Titer der Cymarinlösung gar nicht ändert, mithin eine Bindung des Cymarins an das Cholesterin in meßbarer Weise nicht stattfindet. Es ist wohl anzunehmen, daß sie überhaupt nicht stattfindet, denn bei meiner außerordentlich empfindlichen Versuchsanordnung konnte ich die absolut sehr kleinen Cymarinmengen mit großen Überschüssen von Cholesterin in Beziehung bringen.

¹⁾ Karaulow, *Biochem. Zeitschr.* **32**, 145. 1911.

²⁾ Vgl. Lumerzheim, Die hämolytische Wirkung von Cyclamincholesterin-Mischungen. *Inaug.-Diss.* Upsala-Stockholm 1913.

³⁾ E. Oppenheimer, Fixation der Digitaliskörper. *Biochem. Zeitschr.* **55**. 1913.

Dieses Resultat bestätigt sich auch von der anderen Seite her, als ich versuchte, eine einmal eingetretene Cymarinwirkung durch Auswaschen des Herzens mit Cholesterin aufzuheben. Dieses Vorhaben gelingt nicht, wenn die Vollwirkung des systolischen Stillstandes einmal eingetreten ist, auch wenn man noch so intensiv die Cholesterinlösung durch das Herz preßt.

Fig. 1. Ausgeschnittenes Froschherz (*Esculenta*). *a* = normal und Einbringen der Cymarinlösung (0,000 000 4 g in 1 ccm). *b* und *c* Verstärkung der Wirkung. Der systolische Stillstand wurde nicht abgewartet, sondern zwischen *c* und *d* mit Cholesterin-Ringer gewaschen. *e* Erreichbarer Endzustand.

Hingegen kann man, wie die Fig. 1 zeigt, ein Herz leicht aus der Cymarinvergiftung retten, wenn man die Spülung vornimmt, solange noch einige Pulsationen bestehen, trotz schon stark entwickelter systolischer Wirkung. Diese Entgiftung ist indessen nicht auf Wirkung des Cholesterins zu setzen, denn sie gelingt in gleicher Weise, wenn mit reiner Ringerlösung gespült wird. Die Figur könnte ebenso diese letztere Waschung repräsentieren. Daraus folgt einmal, daß tatsächlich keine Cymarinentgiftung durch Cholesterin stattfindet, und zweitens, daß die Cymarinwirkung in ihrer Anfangsphase reversibel ist. Das

gleiche Verhalten wurde für andere Digitalisglykoside bekanntlich von W. Straub¹⁾, A. Sluyterman²⁾ und besonders von V. Weizsäcker³⁾ ermittelt.

3. Toxicität des Cymarins für Warmblüter (Kaninchen und Katze).

Nach den Ausführungen von Rob. A. Hatcher⁴⁾ und seinen Mitarbeitern ist die Toxicitätsbestimmung von Digitalisglykosiden durch Ermittlung der bei subcutaner oder intravenöser Injektion tödlichen Dosis unzulänglich. Er ersetzt sie, zur Kopierung des natürlichen Resorptionsvorganges, durch die intravenöse Infusion sehr stark verdünnter Lösungen und bekommt dadurch tatsächlich an Katzen ausgezeichnete Resultate.

Zur Toxicitätsbestimmung im Hatcherschen Sinne ließ ich aus einer graduierten Bürette eine Lösung von Cymarin $1/1000000$ äußerst langsam (meistens während ca. 1 Stunde) in der Vena jugularis einfließen und notierte den Stand der Flüssigkeit in der Bürette im Moment des Herztodes des Tieres. Dieser Moment ist, wie auch Hatcher angibt, so scharf markiert, daß eine gleichzeitige Registrierung der Herztätigkeit oder des Blutdruckes sich erübrigt. Zur Demonstration der Schärfe der Endreaktion gebe ich in Fig. 2 den Herztod bei Cymarininfusion $1/1000000$. Die Resultate meiner Versuche gibt die Tabelle II.

Fig. 2. Herztod der Katze. Bei $\times$ sind 0,153 mg Cymarin pro Kilo Katze eingeflossen. Obere Linie = Blutdruckhöhe des Normalzustandes.

¹⁾ W. Straub, l. c.

²⁾ A. Sluyterman, Zeitschr. f. Biolog. **57**, 114. 1911.

³⁾ V. Weizsäcker, Mechanismus der Bindung digitalinartig wirkender Herzgifte. Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmacol. **72**, 347. 1913.

⁴⁾ R. A. Hatcher and L. G. Brody, Amer. Journ. of Pharmacy. **82**, 360. 1910.

Tabelle II.
Minimale letale Dose von Cymarin bei der Katze.

Katze	Verdünnung	Tödliche Dose pro kg	Dauer der Infusion	Bemerkungen
2,800 kg	1 : 1 000 000	0,15 mg	30'	Mit Urethan narkotisiert, kein Erbrechen
2,180 „	1 : 1 000 000	0,152 „	21'	desgl.
2,900 „	1 : 1 000 000	0,12 „	16'	Mit Äther leicht narkotisiert, kein Erbrechen
2,300 „	1 : 1 000 000	0,122 „	10'	desgl.
1,800 „	1 : 1 000 000	0,1 „	52'	desgl.

Nach ihr beträgt der Mittelwert 0,13 mg Cymarin pro Kilo Katze. Für andere Digitalisglykoside bestimmten Hatcher und Brody (l. c.) mit derselben Methode:

Ouabain cryst. (Gratus-Strophanthin?) . .	0,1 mg pro Kilo
Digitoxin Merck cryst.	0,3 mg „ „
Digitalinum verum	1,5 mg „ „
Digitalinum germanicum	4,0 mg „ „
Folia Digitalis	82,0 mg „ „

Das Cymarin reiht sich also auch für Warmblüter dem stärker wirkenden Strophanthin zur Seite (s. a. Froschversuche).

Des weiteren habe ich versucht, die Hattersche Methode der Wertbestimmung von Digitalisversuchen an Kaninchen auszuprobieren, da diese Tiere regelmäßiger zu erhalten sind. Hatcher gibt an, mit Kaninchen stets auseinanderfallende Resultate erhalten zu haben. Ich hatte die Vermutung, daß eine nach anderen Erfahrungen (Gröber ¹⁾) nicht unwahrscheinliche lähmende Wirkung auf die Atmung der Kaninchen die Inkonzanz der Ergebnisse bedingen könnte, und habe deshalb den möglichen Fehler durch während der ganzen Versuche unterhaltene künstliche Atmung auszuschalten versucht. Nach Ausweis der Tabelle III indessen mit Mißerfolg, denn die Werte sind nicht genügend konstant, jedenfalls viel weniger als die Werte für Katzen.

Tabelle III.
Minimale letale Dose von Cymarin beim Kaninchen.

Kaninchen	Verdünnung	Tödliche Dose pro kg	Dauer der Infusion	Bemerkungen
1,650 kg	1 : 1 000 000	0,236 mg	54'	Künstliche Atmung
2,000 „	1 : 1 000 000	0,153 „	25'	desgl.
2,200 „	1 : 1 000 000	0,359 „	1 ^h 28'	desgl.
2,000 „	1 : 1 000 000	0,281 „	27'	desgl.

¹⁾ A. Gröber, Über Strophanthidin. Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 72, 328. 1913.

4. Kumulation.

Ebenfalls durch Hatcher¹⁾ wurde das Kumulationsvermögen der Digitalisstoffe experimentell faßbar gemacht. Hatcher fand, daß bei der intravenösen Infusion eine halbtötliche Dosis von Digitoxin (also 50 % der Dosis letalis minima) das Gift mehrere Tage lang im Herzen bleibt, so daß man z. B. nach zweimal 24 Stunden das vorvergiftete Tier mit dem fehlenden Rest von 50 % der Dosis letalis minima von Digitoxin tödlich vergiften kann. Die Digitalis-purpurea-Glykoside, und unter diesen in erster Linie das Digitoxin, zeigen dieses Haftvermögen im Warmblüterherzen am ausgesprochensten, beim Strophanthin hingegen ist schon nach 24 Stunden die volle letale Dosis (100 %) zur Tötung eines Tieres nötig, das mit 50% der tödlichen Dosis vorbehandelt war. Abgesehen davon, daß damit die Erfahrungen der Praxis glatt bestätigt werden, ist man nun auch imstande, das Kumulationsvermögen des Herzens für bestimmte Digitalissubstanzen zu messen.

Ich bestimmte das Kumulationsvermögen von Cymarin für die Dauer von 48 Stunden, indem ich die Katzen mit 50% und 75% der Dosis letalis minima vorbehandelte und nach 48 Stunden mit der im vorigen Kapitel beschriebenen Infusionsmethode die minimale tödliche Dosis ermittelte. Das Resultat ergibt die Tabelle IV, nach der

Tabelle IV.
Persistenz des Cymarins.

Katze	Konzentration der Cymarinlösung	Vordosis in % der Dosis letalis minima	Zur Tötung nach 48 Stund. nötige Dosis in % der Dosis letalis minima	Persistenz des Cymarins %	Dauer der Infusion	Bemerkungen
2,800 kg	1 : 1000000	50	72,3	27,7	45'	Ohne Erbrechen
2,400 „	1 : 1000000	50	133,0	— 33	53'	Einige Male Würgebewegungen
3,000 „	1 : 1000000	50	117	— 17	57'	Ohne Erbrechen
2,000 „	1 : 1000000	75	73,3	26,7	40'	desgl.
2,400 „	1 : 1000000	75	77,8	22,2	43'	desgl.

in dreien der fünf Versuche nach 48 Stunden noch Reste von ca. 25% der tödlichen Dosis Cymarin im Herzen waren, während die zwei anderen in dieser Hinsicht negativ waren. Da in diesen zwei Fällen zu große Werte bei der zweiten Infusion erzielt wurden, prüfte ich die Hatcher'schen Angaben mit Digitoxin nach, und fand sie so vollauf bestätigt, daß ich von einer Mitteilung meiner Digitoxinversuche absehe.

Bedenkt man, daß Hatcher für das Digitoxin eine mehrwöchentliche Verankerung im Herzen ermittelte, während nach ihm das Stro-

¹⁾ R. A. Hatcher, The Persistence of action of the Digitalin. Arch. of Internal Medicine **10**, 268. 1912.

phanthin nach 24 Stunden schon verschwindet, so wird man nach meinen Versuchen dem Cymarin etwa dasselbe geringe Kumulationsvermögen zuschreiben müssen wie dem Strophanthin.

5. Brechwirkung.

Die Versuche über Kumulation sind auch geeignet, um Beobachtungen über die Brechwirkung des Cymarins anzustellen. Bei dieser Art der Application ist ja ein unmittelbares Erreichen des Brechzentrums ermöglicht, was nach Hatcher und Eggleston ¹⁾ für die Brechwirkung der Digitalissubstanzen ausschlaggebend sein soll. Ich habe nun höchstens einige Würgbewegungen an meinen Tieren beobachtet, niemals den richtigen Brechakt, auch nicht an den Tieren, die nach der Vorbehandlung mit Partialdosen noch 48 Stunden lebten. Gerade diese Tiere machten einen ganz normalen Eindruck, sehr im Gegensatz zu Digitoxintieren, bei denen ja bekanntlich ein fast kontinuierliches Brechen für mehrere Tage auftritt. Somit dürfte dem Cymarin eine sehr geringe Wirkung auf das Brechzentrum zukommen.

Resultate: Das Cymarin ist pharmakologisch eine echte Digitalissubstanz, die nach Toxizität und Reversibilität der Herzwirkung dem Strophanthin sehr nahe steht, während es von den Glykosiden der Digitalis purpurea sich weit entfernt. Es hat wie das Strophanthin und entgegen den Digitalis-purpurea-Substanzen sehr geringe Kumulationseigenschaften und eine geringe Brechwirkung.

¹⁾ R. A. Hatcher and Cary Eggleston. Journal of Pharmacology and exp. Therapeutic 4, 113 (1912).