

(Aus dem k. k. serotherapeutischen Institut in Wien.)

Zur Frage der Kokainhämolys.

Von

Dr. **Ernst Přibram.**

Wie ich in einer früheren Arbeit¹⁾ gezeigt habe, besteht ein charakteristischer Unterschied zwischen den physikalischen Eigenschaften giftiger und ungiftiger Glieder der Alkaloidreihe. Als Prüfsteine dieser physikalischen Eigenschaften dienten: rote Blutkörperchen, kolloide Suspensionen, die komplettierende Eigenschaft frischer Blutsera und die toxische Eigenschaft von Bouillonkulturfiltraten. Endlich liess sich auf exakt physikalischem Wege mit Hilfe von Kapillaritätsbestimmungen beweisen, dass tatsächlich physikalische Differenzen diesen Unterschieden in der Wirksamkeit parallel gehen. Der Zweck jener Untersuchungen war, einerseits die physikalische Natur der erwähnten biologischen Reaktionen darzutun, andererseits die Beziehung zwischen pharmakodynamischen Wirkungen und physikalischen Eigenschaften festzustellen. Unter anderen Alkaloiden zog ich damals auch das Kokain in das Bereich unserer Untersuchungen, und gerade an diesem Präparate konnte ich zeigen, dass jene Alkaloide (Eukain, Kokain) die physikalisch wirksamsten waren, welche die intensivsten pharmakodynamischen (anästhesierende und toxische) Wirkungen entfalten; das schwächer wirksame Novokain erwies sich auch physikalisch schwächer wirksam, die ungiftigen Vorstufen der Kokainreihe (Tropin, Ekgonin, Benzoyl-

1) R. Goldschmidt und E. Přibram, Studien über die hämolys. Eigenschaften der Blutsera. I. Wirkung der Narkotika und Alkaloide auf das Komplement. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therapie Bd. 6 S. 211. 1909, und E. Přibram, Über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution, physikalisch-chemischen Eigenschaften und pharmakodynamischen Wirkungen. Wiener klin. Wochenschr. Bd. 30. 1908.

ekgonin) verhielten sich ähnlich wie isotonische Kochsalzlösungen, waren also pharmakodynamisch indifferent.

Eine in Köppe's Laboratorium [von G. Fischer¹⁾] veröffentlichte Arbeit bringt nun einzelne Anhaltspunkte für die Anschauung vor, dass die bei Zusatz von Kokainlösungen zu roten Blutkörperchen beobachtete Hämolyse keine Wirkung des Alkaloids sei, vielmehr darauf beruhe, dass das salzsaure Salz in wässriger Lösung hydrolytisch gespalten und hierbei auch das Kokainmolekül selbst angegriffen werde. Die durch Spaltung des Ekgoninesters entstehenden Alkohol- und Wasserstoffionen sollen nach Fischer's Ansicht an der Hämolyse beteiligt sein. Diese Frage, welche zunächst nur die Wirkung des Kokains auf rote Blutkörperchen betrifft, veranlasste mich zu den folgenden Untersuchungen bei verschiedener Reaktion, welche neben einer weitgehenden Bestätigung meiner früheren Anschauung über die Kokainhämolyse auch die Überprüfung der Resultate über den Parallelismus der pharmakodynamischen und physikalischen Eigenschaften gestatteten. Endlich wiesen sie einen Weg zur Verstärkung der Alkaloidwirkung, den inzwischen auch ein anderer Autor [O. Gros²⁾] mit Erfolg beschritten hat.

Fischer's Annahme kann von vornherein nicht unbedingt abgelehnt werden, obwohl er keine Angaben darüber macht, welche Mengen von Alkohol und freien Wasserstoffionen innerhalb einer Stunde in einer 10 %igen Lösung von Cocainum muriaticum (Molekulargew. 303!) entstehen³⁾, und ob diese imstande sind, tatsächlich die Hämolyse zu bewirken. Doch lässt sich die erwähnte Annahme noch leichter überprüfen, indem man statt in neutraler auch in alkalischer Lösung untersucht und sich hierbei nicht nur auf das Kokain beschränkt, das in alkalischem Medium viel schwerer löslich ist als in saurem.

1) G. Fischer, Studien zur Hämolyse. Gibt es eine Kokainhämolyse? Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 134. 1910.

2) O. Gros, Über die Narkotika und Lokalanästhetika. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 62 S. 380. 1910; Bd. 63 S. 80. 1910.

3) Ich fand nach einstündigem Erwärmen einer 10 %igen Lösung von Cocainum muriatic. auf 40° C. Wasserbad bei Prüfung mit empfindlichem Lackmuspapier keine nachweisbare Säuremenge. Dieselbe Lösung zeigte nach 24 Stunden immer noch neutrale Reaktion. Mit 3 Jahre alten und im Lichte zersetzten Lösungen Versuche anzustellen, ist m. E. nicht statthaft und für die vorliegende Frage nicht beweisend.

Ich habe also meine Untersuchungen wieder an der ganzen Kokainreihe aufgenommen, und zwar sowohl in alkalischer als auch in neutraler Lösung, und da stellte sich nun überraschenderweise heraus, dass alle giftigen (anästhesierenden) Glieder der Kokainreihe in alkalischem Medium ausserordentlich viel intensiver auf Erythrocyten wirken als bei neutraler Reaktion. Dies gilt beispielsweise auch für das Kokain, obwohl es (richtiger wohl: weil¹⁾ es) in alkalischem Medium teilweise ausfällt.

Dieses Versuchsergebnis bot nun eine ausserordentlich günstige Gelegenheit, meine früheren Angaben bezüglich des Parallelismus der physikalischen Eigenschaften und biologischen Wirksamkeit zu kontrollieren. Ich musste auf Grund meiner früheren Untersuchungen erwarten, dass auch die physikalische Wirksamkeit²⁾, geprüft an der Kapillarität der Lösungen, durch Zusatz von Alkali geändert wird. Tatsächlich ist die Oberflächenspannung der giftigen Glieder der Kokainreihe in alkalischem Medium eine ausserordentlich viel höhere als im neutralen, wie die weiter unten angeführten Kapillaritätsbestimmungen zeigen. Hieraus ergibt sich weiter, dass — bei den in Alkali löslichen Gliedern der Reihe — auch wahrscheinlich eine Zunahme der anästhesierenden Wirkung zu erwarten ist. Dies ist tatsächlich der Fall. O. Gros³⁾ zeigt nämlich in einer soeben erschienenen experimentellen Studie, dass die anästhesierende Wirkung einer Novokainbikarbonatlösung etwa fünfmal grösser ist als die einer Novokainchloridlösung. Auf die Erklärungsmöglichkeiten all dieser praktisch und theoretisch wohl gleich wichtigen Ergebnisse will ich nach Besprechung der einzelnen Versuche näher eingehen.

Versuchsanordnung: Die Lösungen der Alkaloide wurden durchwegs in 0,9 %iger Kochsalzlösung vorgenommen und nur frisch bereitete Lösungen verwendet. Zur Prüfung in alkalischem Medium wurde je 1 ccm der Alkaloidlösung mit 1 ccm einer 2 %igen Lösung von Natr. bicarbonic. in 0,9 %iger Kochsalzlösung versetzt, so dass

1) Es handelt sich hierbei wahrscheinlich um eine Änderung des Teilungskoeffizienten $\frac{\text{Blutkörperchen}}{\text{Wasser}}$, wie ich später noch ausführen werde.

2) Die Wirkung auf Lecithinsuspensionen lässt sich nur in schwach saurem Medium prüfen, weil die Suspension sonst Emulsionscharakter annimmt, nicht etwa, wie Fischer annimmt, weil man erst durch die Säure das Kokain hydrolysieren muss.

3) O. Gros, l. c.

die Mischung 1 % NaHCO_3 enthielt. Von einer 5 %igen Aufschwemmung von Kaninchenerythrocyten in 0,9 %iger Kochsalzlösung wurden je 2 ccm zu 2 ccm der genannten Mischung zugesetzt. Als Kontrollen dienten einerseits die ebenfalls auf die Hälfte (mit Kochsalzlösung) verdünnten Ausgangslösungen der Alkaloide, andererseits eine 1 %ige Lösung von NaHCO_3 in Kochsalzlösung. Alle Proben wurden stets gleichzeitig in ein auf 40° C. erwärmtes Wasserbad gebracht und 2 Stunden bei dieser Temperatur, dann weitere 16 Stunden bei Zimmertemperatur beobachtet. Die von Fischer (Köppe) vorgeschlagene Methode der „Schmelzpunktbestimmung“ (?) der roten Blutkörperchen weicht von allen bei biologischen Untersuchungen üblichen Methoden derart ab, dass sie für den vorliegenden Zweck unstatthaft erscheint. Eine Erhitzung auf 56°, 58°, ja 65° C. (!) bringt derartige Versuchsfehler und Komplikationen mit sich (Koagulation, Veränderung des Blutfarbstoffs), dass ich die bisher übliche „zeitraubende“ Methode vorziehe.

Die beistehende Tabelle I (S. 354) zeigt die Versuchsergebnisse.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, sind 1 %ige neutrale Kokainlösungen nicht imstande, rote Blutkörperchen aufzulösen, wohl aber alkalische Lösungen gleicher Konzentration. 5 %ige alkalische Lösungen lösen viel rascher als neutrale. Das Kokain fällt in dieser Konzentration in alkalischer Lösung bereits teilweise aus, ein Umstand, der, wie ich später noch begründen werde, wahrscheinlich im kausalen Zusammenhange mit der intensiveren Wirkung steht:

Änderung des Teilungskoeffizienten $\frac{\text{Blutkörperchen}}{\text{Wasser}}$ [Meyer¹), Overton²)]. Dies dürfte auch bei den übrigen Alkaloiden der für die Wirksamkeit ausschlaggebende Faktor sein. Die Wirkung des Eukains, die in neutraler oder saurer Lösung bereits eine recht bedeutende ist, wird durch Alkalizusatz noch wesentlich verstärkt. Noch augenfälliger ist die Wirkung des alkalischen Novokainkarbonats gegenüber der des neutralen Chlorids.

Die ungiftigen Glieder der Reihe: Tropin, Ekgonin, Benzoyl-ekgonin, lösen zunächst (innerhalb 2 Stunden) weder in neutralem noch in alkalischem Medium. Bei länger dauernder Beobachtung

1) H. Meyer, Zur Theorie der Narkose. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 42 S. 109, 119; Bd. 46 S. 338.

2) E. Overton, Studien über die Narkose. Jena 1901.

Tabelle I.

Je 2 cm ³ Lösung (0,9 % NaCl-Lösung) vom Gehalt an:		Beobachtung: 2 Stunden bei 40° C. (Wasserbad), weitere 16 Stunden bei Zimmertemperatur							
Alkaloid (entsprechend $\frac{1}{6}$ n-Lösung)	Natr. bicarbon	5 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	18 Std.
		Je 2 cem einer 5 % igen Aufschwemmung von Kaninchen-erythrocyten in 0,9 % iger Kochsalz-lösung							
5 % Kokain	0	0	0	0	gelöst	—	—	—	—
5 % Kokain	1 % Natr. bicarbon. ²⁾	0	0	gelöst	—	—	—	—	—
ca. 2 % Eukain ²⁾ . . .	0	0	0	—	gelöst	—	—	—	—
ca. 2 % Eukain ²⁾ . . .	1 % Natr. bicarbon.	gelöst	—	—	—	—	—	—	—
5 % Novokain	0	0	0	0	0	0	0	0	partiell gelöst
5 % Novokain	1 % Natr. bicarbon.	0	gelöst	—	—	—	—	—	—
3,4 % Ekgonin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3,4 % Ekgonin	1 % Natr. bicarbon.	0	0	0	0	0	0	partiell gelöst	partiell gelöst
1,6 % Benzoyllegonin ²⁾	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,6 % Benzoyllegonin ²⁾	1 % Natr. bicarbon.	0	0	0	0	0	0	partiell gelöst	partiell gelöst
1 % Kokain	0	0	0	0	0	0	0	0	partiell gelöst
1 % Kokain	1 % Natr. bicarbon.	0	0	fast komplett gelöst	gelöst	—	—	—	—
Kontrolle: 0	1 % Natr. bicarbon.	0	0	0	0	0	0	0	0

1) Der Zusatz des Natriumbicarbonats zur Blutkörperchenaufschwemmung ging hier jenen des Kokains voran, weil dieses sonst ausfällt; sonst wurde das Alkaloid mit der 2 % igen Lösung von Natriumbicarbonat vor dem Zusatz der roten Blutkörperchen gemischt.

2) Die gesättigte Lösung filtriert und auf die Hälfte verdünnt.

ist auch hier eine, wenn auch ausserordentlich schwache Hämolyse zu konstatieren. Hier scheint tatsächlich ein Anhaltspunkt dafür zu bestehen, dass eine Wirkung des Alkalis auf das Radikal im Sinne einer stärkeren Dissoziation zustande kommt. Dabei sei aber noch besonders betont, dass 1. diese Wirkung bei giftigen Alkaloiden ausserordentlich viel intensiver zu sein scheint als bei ungiftigen, und 2. nicht nur die Ursache der Hämolyse, sondern eben eine allen genannten biologischen, pharmakodynamischen und physikalischen Wirkungen vorangehende chemische Reaktion wäre, wie auch Gros für die anästhesierende Wirkung annimmt. Damit würde sich ein neuer Ausblick in die chemische Reaktionsfähigkeit der in Frage stehenden Alkaloide eröffnen. Übrigens lässt sich vielleicht auch hier die oben gegebene Erklärung: Änderung des Teilungskoeffizienten, anführen. Ob die ungiftigen Alkaloide durch Lösung in alkalischem Medium eine, wenn auch nur schwache, pharmakodynamische Wirksamkeit erlangen, muss späteren Untersuchungen vorbehalten werden.

Der Einfluss der Reaktion des Mediums auf die Oberflächenspannung der Alkaloidlösungen wurde mit Hilfe des Jäger'schen Kapillarimeters geprüft. (Die Beschreibung des Apparates und der Methode siehe in der zitierten Arbeit von Goldschmidt und Příbram.) Zunächst bestimmte ich die Kapillaritätskonstante einer 1%igen Lösung von Natr. bicarbon. in 0,9%iger Kochsalzlösung ($\alpha = 75$; also etwa derselbe Wert wie für Wasser). Nun setzte ich von einer 2%igen Lösung von Natr. bicarbon. je 5 ccm zu 5 ccm einer $\frac{n}{3}$ -Alkaloidlösung, und bestimmte die Kapillarität dieser (alkalischen) Mischung. Daneben wurde die auf die Hälfte mit 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnte $\frac{n}{3}$ -Alkaloidlösung (also bei neutraler Reaktion) untersucht. Da das Kokain in 1%iger Lösung von Natr. bicarbon. sofort ausfällt, wurde hier die $\frac{n}{3}$ -Lösung das einmal mit Kochsalzlösung auf die Hälfte verdünnt, das anderemal zu 5 ccm einer $\frac{1}{3}$ -Normallösung 4 ccm Kochsalzlösung und 1 ccm Natr. bicarb. zugesetzt. Trotz des relativ geringen Zusatzes sank auch hier die Kapillaritätskonstante tief herab. Beistehende Tabelle gibt die Kapillaritätskonstanten (α) der neutralen und alkalischen Alkaloidlösungen.

Lösung (0,9 % ige Kochsalzlösung) enthaltend:		Kapillaritäts-Konstante α
Alkaloid (1/6 Normal)	Natr. bicarbon.	
5 % Kokain	0	67,20
5 % Kokain	0,1 %	54,60
ca. 2 % Eukain ¹⁾	0	65,50
ca. 2 % Eukain ¹⁾	1 %	56,40
5 % Novakain	0	72,70
5 % Novakain	1 %	61,80
3,4 % Ekgonin	0	74,57
3,4 % Ekgonin	1 %	74,57 ²⁾
1,5 % Benzoylekgonin ¹⁾	0	71,84
1,5 % Benzoylekgonin ¹⁾	1 %	71,84 ²⁾
0	1 %	75,50

Wir haben also hier die merkwürdige und beachtenswerte Erscheinung zu verzeichnen, dass eine Reaktionsänderung des Mediums eine auffallend intensive Änderung der Oberflächenspannung bei Gegenwart einzelner Alkaloide bedingt. Die Erscheinung selbst hängt zweifellos mit der verschiedenen Löslichkeit der in Rede stehenden Salze bei neutraler und alkalischer Reaktion zusammen. Bei letzterer ist die Lösung infolge der Schwerlöslichkeit des Alkaloids (Kokain z. B.) in der Nähe der Sättigungsgrenze. Für solche Lösungen sind wiederholt Abweichungen der Kapillaritätskonstanten beobachtet worden. Doch pflegt man derartigen Abweichungen in der Regel keine besondere Beachtung zu schenken. Hier scheinen sie uns aber doch einen wertvollen Hinweis auf Differenzen in der biologischen Wirkung zu enthalten und sollen aus diesem Grunde den Ausgangspunkt eigener Untersuchungen bilden. Ich behalte mir vor, diese Beobachtungen zu vervollständigen im Hinblick auf den Zusammenhang zwischen pharmakodynamischer Wirksamkeit und physikalischem Charakter mit Berücksichtigung der chemischen Konstitution. Hier wollte ich nur auf den Parallelismus der Erscheinungen: Hämolyse — anästhesierende Wirkung (Gros) — Kapillarität der Lösungen, auch

1) Die gesättigte Lösung filtriert, dann entsprechend (auf die Hälfte) verdünnt.

2) Nach längerem (etwa 24 Stunden langem) Stehen in alkalischer Lösung sinken auch hier die Werte allmählich ab, jedoch nicht so tief, wie die der giftigen Alkaloide bei gleich langer Beobachtungsdauer. Alle Werte gelten für frisch bereitete Lösungen. Wegen der allmählichen Änderung der Kapillarität alkalischer Alkaloidlösungen sind also alle Werte nur approximativ und ändern sich im Laufe der Beobachtung mit der Zeit, und zwar in dem Sinne, dass die Differenzen in neutraler und alkalischer Lösung noch grösser werden.

unter geänderten Versuchsbedingungen (Reaktionsänderung), hinweisen.

Aus den oben angeführten Zahlen der I. Tabelle ging hervor, dass alle giftigen, pharmakodynamisch wirksamen Alkaloide der Kokainreihe (im Gegensatz zu den ungiftigen Gliedern der Reihe) in ihrer hämolysierenden Wirkung intensiv verstärkt werden, wenn man die Untersuchungen in alkalischem Medium vornimmt. Es galt nun noch zu entscheiden, ob die oben angeführte Annahme zu Recht besteht, dass der Teilungskoeffizient $\frac{\text{Blutkörperchen}}{\text{Wasser}}$ ausschlaggebend für diese Erscheinung ist. Zur Klärung dieser Frage schlug ich folgenden Weg ein:

Es gelingt leicht, die Löslichkeit des Kokains in Wasser oder einer schwachen (1 %igen) Kochsalzlösung dadurch herabzusetzen, dass man den Kochsalzgehalt des Mediums steigert. Ich stellte also eine Reihe auf, in welcher die hämolysierende Wirkung einer und derselben Kokainlösung bei verschiedener Kochsalzkonzentration geprüft wurde:

Je 2 ccm Lösung enthaltend			Beobachtung 2 Stunden bei 40° C. (Wasserbad), weitere 16 Stunden bei Zimmertemperatur					
Alkaloid	NaCl %		Min. 5	Min. 15	Min. 30	Std. 1	Std. 2 ...	Std. 18
10 % Kokain	0,9	1 ccm 5% ige Blut- aufschwemmung in 0,9% iger NaCl-Lösung	0	0	gelöst			
10 % "	5		0	0	gelöst			
10 % "	18		gelöst					
Kontrolle: 0	18		0	0	0	0	0	0

Es zeigt sich also, dass die Kokainhämolyse auch dadurch erhöht werden kann, dass die Löslichkeit des Kokains in Wasser durch Zusatz entsprechender, an sich nicht hämolysierender Kochsalzmengen herabgedrückt wird. Dies spricht sehr für die obige Annahme, dass die Wirkung des Kokains auf rote Blutkörperchen bedingt ist durch die Aufnahmefähigkeit der letzteren für das Alkaloid. Sollte sich in weiteren Versuchen, die ich mir vorbehalte, herausstellen, dass auch die anästhesierende und toxische Komponente durch Kochsalzzusatz zur Kokainlösung gesteigert wird, so hätten wir auch hier einen vollkommenen Parallelismus zur Wirkung der Narkotika, welche nach den Untersuchungen von Meyer und Overton bedingt ist durch ihre Lipoidlöslichkeit.

Zusammenfassung.

1. Die Auflösung der roten Blutkörperchen durch Kokain findet sowohl bei neutraler als auch bei alkalischer Reaktion (1 % NaHCO_3) statt, kann daher nicht bedingt sein durch Säurespaltung des Alkaloids (Annahme Köppe's).

2. Die Wirkung aller giftigen Glieder der Kokainreihe auf rote Blutkörperchen wird durch alkalische Reaktion des Mediums erheblich verstärkt.

3. Die durch Kokain, Eukain, Novokain bedingte Erhöhung der Oberflächenspannung des Lösungsmittels erfährt in alkalischem Medium eine weitere, ganz bedeutende Zunahme. Die ungiftigen Glieder der Reihe (Ekgonin usw.) zeigen zunächst keine Änderung, nach längerer Zeit ebenfalls eine Zunahme, die jedoch hinter der der giftigen Glieder der Reihe zurücksteht.

4. Durch Erhöhung der Konzentration des Mediums an Kochsalz (5 %, 15 %) lässt sich die Kokainhämolyse ebenfalls wesentlich beschleunigen.

5. Da das Kokain sowohl in alkalischem Medium als auch in höherprozentigen Kochsalzlösungen schwerer löslich ist, lässt sich zur Erklärung der besseren Hämolyse in diesem Medium die Annahme heranziehen, dass eine Änderung des Teilungskoeffizienten Blutkörperchen Wasser hierfür maassgebend ist.

6. Da die physikalischen und biologischen Eigenschaften der Alkaloide mit ihren pharmakodynamischen parallel gehen und wahrscheinlich auch in einem kausalen Zusammenhange stehen, werden die letzteren (anästhesierende und toxische Wirkung) voraussichtlich in ähnlicher Weise (Reaktionsänderung, Kochsalzkonzentration des Mediums) gesteigert werden können wie jene. Für die Reaktionsänderung hat Gros in einer kürzlich erschienenen Arbeit bereits eine Beeinflussung im Sinne einer Steigerung der anästhesierenden Wirkung im alkalischen Medium nachgewiesen.
