

Zur künftigen physiologischen Einstellung der offizinellen Digitalisblätter.

Von C. Focke, Düsseldorf.

Die Bemühungen, für unsere wichtigste Arzneidroge, die Folia Digitalis, in den Apotheken eine physiologisch gleichmäßige Wirkungsstärke zu erreichen, haben auch im Kriege nicht geruht. Nachdem nun vom Reichsgesundheitsamt für die Neuauflage des Deutschen Arzneibuches unter dem 7. Dezember 1917 Vorschläge eingefordert sind und nachdem die Deutsche pharmazeutische Gesellschaft in Berlin unter dem 7. März 1918 hierfür noch besondere Fragen aufgestellt hat, von denen einzelne gerade auf physiologische Prüfungen Bezug nehmen, wird es Zeit, sich vor Augen zu führen, welche Schritte hierin während der letzten Jahre vorwärts gemacht sind und welche noch zu tun übrig bleiben.

Vorher ist jedoch eine Verständigung darüber nötig, ob die physiologische Prüfung auch der anderen offizinellen Herzmittel gleichzeitig eingeführt werden soll. Für die einzige offizinelle Zubereitung der Digitalis, die Tinktur, würde die Vorschrift, daß sie aus den geprüften Blättern bereitet und nicht länger als ein Jahr aufbewahrt werden soll, zur Sicherung der Gleichmäßigkeit genügen. Andererseits halte ich es aber nicht für zweckmäßig, auch die physiologische Prüfung von Samen Strophanthi und Bulbus Scillae nebst ihren Zubereitungen schon jetzt zu fordern. Denn, wie nach allen neueren Versuchen die Reinpräparate der drei Drogen keine parallelen physiologischen Wertreihen ergeben, so muß das mindestens ebenso für ihre galenischen Präparate gelten. Obgleich die für die Digitalisblätter zu wählende Prüfungsmethode später wahrscheinlich auch den anderen kardiotonischen Drogen und Präparaten angepaßt werden kann, so darf sie auf diese doch nicht ohne weiteres übertragen werden. Außerdem müssen wir ja Strophanthus und Scilla vom Ausland beziehen; die Einfuhr ist aber jetzt so weit beschränkt, daß die vergleichende Prüfung verschiedener Sorten nicht ausreichend möglich ist. Um die Erledigung der Digitalisfrage nicht unnütz aufzuhalten, wäre es daher besser, zunächst sie allein zu lösen. Wenn erst einmal die Prüfung der Folia Digitalis in das D. A.-B. VI aufgenommen ist und dann darüber die Erfahrung einiger Jahre vorliegt, wird es früh genug sein, die Prüfung der genannten anderen Mittel für das D. A.-B. VII zu erwägen. Darum ist das Ziel des folgenden allein die Prüfung der Digitalisblätter.

Hier haben sich nun zwei Fragegruppen als die hauptsächlichsten herausgestellt. Bei der ersten handelt es sich um die Bereitung des für die Tierversuche besten Blätterrauszuges, bei der zweiten um dessen beste Anwendung am Tier.

I. Welcher Auszug der Digitalisblätter ist für die physiologische Wertmessung am zweckmäßigsten?

Die erste Fragegruppe ist an Umfang und Bedeutung die kleinere. Man kann mit verschiedenartigen Bereitungen des Auszuges guten Erfolg haben, wenn man nur das einmal gewählte Vorgehen beibehält. Immerhin muß auch hier noch eine klare Vorschrift erreicht werden.

Zu diesem Ziel sind sehr beachtenswerte Mitteilungen im Winter 1916/17 von Heffter - Berlin und von W. Straub - Freiburg erschienen. Letzterer hat dann, zum Teil mit Ernst Meyer, noch im Sommer 1917 und 1918 Ergänzungen dazu geliefert. Straub (21) knüpfte an die von Kraft gemachte Feststellung an, daß unter den Wirkstoffen der Blätter der als „Gitalin“ bezeichnete Teil nur mit kaltem Wasser ganz ausgezogen werden kann, weil er sich oberhalb von 30° zum Teil ausscheidet oder zersetzt. Hiernach hat Straub das Digitalisblatt aufzuarbeiten gesucht, indem er Folia titrata zuerst mit Kaltwasser, dann den abgepreßten Rest noch mit 50%igem warmen Alkohol auszog und darauf die beiden Auszüge physiologisch maß. Ebenso wurden hintereinander ein Heißwasser- und ein Warmalkoholauszug geprüft; und schließlich ließ er bei einer Blätterprobe dem Kaltwasserauszug noch einen Heißwasser- und einen Warmalkoholauszug folgen. Die physiologischen Messungen geschahen von Straub wie auch von Heffter (10) nach der von Houghton seit 1898 empfohlenen langfristigen Methode. An letzterer hat Straub eine Abkürzung vorgenommen, auf deren Nachteile ich unten (im II. Teil) noch eingehe. Da aber seine hier in Rede stehenden Ergebnisse anscheinend auf mehrfach wiederholten Prüfungen beruhen, so darf man mit seinen Zahlen doch vorläufig rechnen.

Straub kommt zu der Annahme, daß im Digitalisblatt die drei Hauptglykoside durchschnittlich in folgenden ungefähren Mengen vorhanden sind:

Gitalin	0,49%	} wasserlöslich
Digitalein	0,28%	
Digitoxin	0,25%	
zusammen rund 1% der Fol. titrata.		alkohollöslich

Mit Sicherheit muß man aus seinen Versuchen den Schluß ziehen: Die Aufnahme aller Wirkstoffe in einen einzigen Auszug ist unmöglich.

Der primäre Kaltwasserauszug enthält nach sechsstündiger Schüttelung alles Wasserlösliche, d. h. das gesamte Gitalin und das gesamte Digitalein, also etwa 75% der Glykoside; es fehlt das gesamte Digitoxin.

Der primäre Heißwasserauszug enthält etwa 69% der Glykoside. Diese setzen sich zusammen aus a) etwa 70% des Gitalins, weil davon etwa 30% verloren gegangen sind; — b) aus dem gesamten Digitalein; — c) aus einem Teil des Digitoxins, etwa 30% (?¹⁾.

¹⁾ Straub (21) hat die Blätter nach neunstündiger Kaltwasserextraktion noch mit Heißwasser infundiert und darin

Zur Herstellung des Alkoholauszuges war zuerst die sechsstündige Schüttelung mit 50% Alkohol bei 50° Wärme benutzt worden. Später fand *Straub*, daß nach *Heffter* im Soxhlet-apparat, also mit 50% Alkohol bei dessen Siedetemperatur von ungefähr 80° ein noch wirksamerer Auszug erreicht wird; außerdem dehnte er die Extraktion im Soxhlet von 8 Stunden auf 24 Stunden aus, weil nach 8 Stunden das Digitoxin noch nicht ganz ausgelaugt schien. Dieser primäre Heißalkoholauszug wird nun wahrscheinlich höchstens etwa 80% der Glykoside enthalten. Denn es befindet sich darin zwar das gesamte Digitoxin und Digitalein; aber vom Gitalin ist vermutlich die Hälfte durch die Erhitzung und Alkoholwirkung verloren gegangen.

Wenn man hiernach den Gesamtgehalt der Blätter zur physiologischen Prüfung bringen wollte, so müßte man von jeder Blätterprobe zwei Auszüge herstellen, etwa sechsstündige Kaltwasserschüttelung und dann Soxhlet-Alkoholauszug, dann beide getrennt prüfen und die Ergebnisse addieren. Das wäre eine große Erschwerung. Da ist es doch besser, nur eine einzige, möglichst günstige Auszugsform zu wählen.

Welche Auszugsform soll man nun vorziehen?

Heffter fordert einfach diejenige, die den höchsten Wirkungswert liefert. Das wäre der 24stündige Soxhlet-Alkoholauszug. Dieser, der nur ein paar Prozent der Glykoside mehr enthält als der Kaltwasserauszug, wirkt trotzdem merklich stärker als letzterer, weil in ihm das Digitoxin stärker wirkt als das Gitalin in jenem. Aber so groß ist der Unterschied nicht, daß er den Ausschlag geben müßte. Die physiologische Blätterprüfung hat doch den Zweck, dem Kranken zu dienen; deshalb muß auch die Wahl des Auszuges diesem Zweck, d. h. dem Bedürfnis der ärztlichen Praxis, sich unterordnen. Die gebräuchlichsten Arzneiformen der Blätter sind ja Pulver und Infus. Im Pulver besteht nur $\frac{1}{4}$ der Glykoside und im Infus vielleicht nur $\frac{1}{10}$ aus Digitoxin. Das Wesentliche sind also immer die anderen, die wasserlöslichen Glykoside. Darum sollte nicht gerade diejenige Auszugsform gesucht werden, die alles Digitoxin enthält, aber eines merkbaren wasserlöslichen Anteils entbehrt; sondern umgekehrt ist ein Auszug zu wählen, der möglichst viel von den wasserlöslichen Wirkstoffen enthält, von denen hauptsächlich der therapeutische Erfolg ausgeht.

1242 F. D. gefunden; die nachfolgende Extraktion mit 50% Alkohol ergab 1420 F. D. Er sagt, es könne „das bei der Infusion nach Kaltextraktion gefundene große Quantum wirksamer Substanz nur Digitoxin sein“. Damit ist meine seit Jahren vertretene Ansicht, daß von dem an sich wasserunlöslichen Digitoxin ein nennenswerter Teil in das Infus übergeht, bestätigt. Während aber nach dieser Untersuchung *Straub's* der in das Infus übergehende Teil des Digitoxins etwa 45% betragen würde, kommt sein späterer Befund (22) zu einer geringeren Menge. Er berechnet hier das gesamte Digitoxin in 100 g Blättern zu 0,24 g und das nach Infusbereitung Zurückbleibende auf 0,20 g; hiernach würden in das Infus etwa 17% übergehen. Ich möchte vorläufig zwischen den beiden Ergebnissen die Mitte annehmen und die in das Infus übergehende Menge auf rund 30% des Digitoxins schätzen.

Im Hinblick auf die obigen Zahlen habe auch ich den Kaltwasser- und den Heißwasserauszug im Tierversuch verglichen. Ein Kaltwasserauszug 4,0 : 100,0 (mit 1,0 einer 5%igen Sodalösung und mit 5,0 Spiritus zur Konservierung für den dreitägigen Versuch) sechs Stunden geschüttelt¹⁾ und ein Infus 1,0 : 20,0 (mit 8 Tropfen der Sodalösung) wurden nebeneinander sowohl nach der kurzfristigen wie nach der zeitlosen Methode sorgfältig geprüft. Dabei ergab sich tatsächlich, daß der Kaltwasserauszug auf die Droge berechnet um etwa 7—10% mehr Wirksames enthält als das Infus. Leider ist die Konzentration des Kaltwasserauszuges von 4 : 100 zur Prüfung nach der kurzfristigen Methode nur bei sehr guten Blättern und nur an Winterfröschen anwendbar; im übrigen ist er für diese Methode zu schwach. Die Konzentration läßt sich aber nicht weiter steigern, weil dann die Blätter nicht erschöpft werden. Das Infus kann dagegen auch stärker, nämlich bis 10 : 100, bereitet werden. Das Ergebnis ist:

Mit Rücksicht auf den ärztlichen Zweck, den die Prüfungsvorschrift erfüllen soll, sind nur wässrige Auszüge zu empfehlen. Am besten sind die sechsstündige 4%ige Kaltwasserschüttelung und das 10%ige Heißwasserinfus. Erstere eignet sich aber im Bereich der subkutanen Froschmethoden nur dann, wenn mit langer Frist geprüft wird, während das Infus bei allen Methoden brauchbar ist. Welcher der beiden Auszüge vorzuschreiben ist, würde sich also nach der ausgewählten Methode des Tierversuches richten müssen.

II. Der beste Weg, den Blätterauszug am Tier zu messen.

a) Allgemeines.

Wer Digitalisblätter regelmäßig am Tier messen will, wird wohl zuerst nach der geeignetsten Tierart suchen. Diese ist, wie mir scheint, für Deutschland gefunden; denn die von einigen ausländischen Forschern bevorzugten höheren Tiere (Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen) müssen in Deutschland hinter den Fröschen zurückstehen. Unter den letzteren sind zwar die Wasserfrösche (Esculenten) nicht ganz unbrauchbar; wenn aber eine Gleichmäßigkeit vorgeschrieben werden soll oder wenn die Prüfung am ganzen Frosch geschieht, so müssen unbedingt die gegen Digitalis empfindlichsten Gras- oder Landfrösche (Temporarien) genommen werden. Diese sind ja auch in genügender Menge erhältlich, wenn man die kleineren Tiere mitbenutzt, was ohne Nachteil geschehen kann.

Die am Frosch bekannt gewordenen Anwendungsarten sind:

1. an ganzen Temporarien mit subkutaner Einspritzung in die großen Lymphsäcke:

a) die langfristigen Methoden, mit mindestens 12 Stunden Beobachtung (nach Houghton) oder zeitlos (nach Straub),

¹⁾ Dazu stellte mir Herr Prof. Dreser im Biochemischen Institut der hiesigen Akademie für praktische Medizin seinen elektrischen Apparat freudlichst zur Verfügung.

- b) mehrere Methoden mit begrenzten mittleren Fristen, z. B. mit 4 Stunden (Goodall), mit 2 Stunden (Ziegenbein und Siebert u. a.), 1 Stunde (unter Cushman von Farnulener und Lyons ausgearbeitet, von vielen späteren benutzt, in den letzten Jahren auch von Gottlieb unter Verlassen seiner früheren $\frac{1}{2}$ -Stundenmethode angenommen),
 - c) die kurzfristige Methode (nach Focke);
2. an ganzen Temporarien mit intravenöser Einspritzung:
 - a) durch eine in die Bauchvene eingebundene, aus Mariottescher Flasche gespeiste Kanüle (Santesson),
 - b) mit unmittelbarer Einspritzung in die Bauchvene (Gottlieb);
 3. am isolierten Herzen von Temporarien oder Esculenten (nach Santesson, Schmiedeberg, Straub, Isserkutz).

Die zuletzt (unter 3.) angeführten Prüfungen sind zwar sehr geeignet, das Vorhandensein eines Stoffes der Digitalisgruppe qualitativ in der geringsten Menge noch anzuzeigen, wenn die Prüfung am ganzen Frosch versagt. Aber die Prüfungen am isolierten Herzen sind, wie Straub selbst kürzlich ausgeführt hat, zu den quantitativen Messungen nicht geeignet (21 S. 59 Anm.).

Bei den intravenösen Einspritzungen (unter 2.) vergehen nach Gottlieb bis zum systolischen Stillstand nach den stärksten überletalen Gaben immer noch einige Minuten, und nach den eben noch zum Herzstillstand führenden „Grenzdosern“ immer noch 7—17 Minuten (7). Mit anderen Worten: das nach der subkutanen Einspritzung beobachtete Latenzstadium der Bindungszeit wird auch nach der intravenösen Einspritzung nicht gespart, und die entstehenden Reihen sind hier eben so lückenhaft. Soll aber die „minimal-letale Dosis“ gesucht werden, so ist das durch intravenöse Einspritzung noch schwieriger, weil hier die Entgiftungstätigkeit des Herzens und der übrigen Organe dem Bestehenbleiben des systolischen Stillstandes noch stärker entgegenarbeitet als nach der subkutanen Einspritzung, wo die Aufsaugung aus dem Lymphsack fort dauert. Daher kommt es nach der intravenösen Zufuhr noch öfter zum störenden Wiederbeginn der schon aufgehoben gewesenen Herztätigkeit als nach der subkutanen Zufuhr.

Somit vereinfacht sich die Frage dahin: welches ist die beste Methode mit subkutaner Einspritzung (1 a—c)?

Hier darf nicht übersehen werden, daß die Art des Digitaliskörpers oder der Zweck seiner Prüfung einen Unterschied bedingt. Wenn es sich z. B. um ein stark wirkendes Reinpräparat oder sonst einen Körper von unbekannter Größenordnung seiner Giftigkeit (Toxizität) handelt, so ist eben die Toxizität in Gestalt der Mindestgabe zu suchen, von der durchschnittlich noch Temporarien, auf 1 g berechnet, getötet werden. Dazu muß also unstrittig eine Minimaldosen-, d. h. langfristige Methode (1 a) angewendet werden. Es fragt sich aber, ob für die Blätter, deren Werte nur in bekannten

mäßigen Grenzen wechseln, die Feststellung der Toxizität nötig und zweckmäßig ist?

Früher habe ich ja stets für die Blätter an der kurzfristigen Methode (I c) festgehalten. Aber bei ihr ist der Untersucher, wenn er eine Prüfung begonnen hat, gezwungen, sie in den nächsten Stunden fortzuführen; und der Krieg brachte den Wunsch, behufs Ausübung ärztlicher Pflichten möglichst frei zu sein in der Wahl der Zeit für Laboratoriumsarbeiten. Da dieses bei einer langfristigen Methode zutrifft, so war ich im Winter 1916/17 sehr erfreut, bei Straub zu lesen, daß er zufrieden sei mit seiner zeitlosen Methode, die er aus der zwölfstündigen unter Beschränkung der Tierzahl entwickelt hatte; und ich dachte, man könne daraus doch vielleicht eine Vorschrift für das Arzneibuch herrichten.

b) Eigene Versuche mit der zeitlosen Methode nach Straub.

Im Oktober 1917 suchte ich Straub in Freiburg auf. Er hatte die Freundlichkeit, mir sein Verfahren vollständig zu zeigen. Ueberdies gab er mir eine Schilderung und Begründung davon mit; und weil das Verfahren aus seinen Veröffentlichungen nicht so klar hervorgeht wie aus diesem Schriftstück, so gebe ich es mit seiner Zustimmung hier wieder.

Zeitlose Methode der Digitalisprüfung.

Männliche Grasfrösche, abgetrocknet, Harn abgepreßt und auf Gramm genau mit Abrundung nach unten gewogen. Tiere sitzen in feuchter Atmosphäre auf Tellern unter Glasglocke.

Injektion der zu prüfenden Lösung in etwa 0,5 ccm Volumen durch den Mundboden in den Bauchlymphsack. Die injizierten Tiere zurück unter ihre Glocken und weiter beobachtet.

Der Titer der Folia Digitalis liegt bei etwa 0,02 ccm pro Gramm Frosch bei Verwendung eines 4%igen Infuses oder Kaltextraktes. Zur genauen Einstellung werden vier Frösche mit Dosen um 0,02 ccm pro Gramm Tier herum nach oben und unten behandelt, z. B.

Tier	Gewicht	als wahr- scheinlich berechnete	berechnete Dosis multipli- ziert mit	gegebene Dosis	Ergebnis	pro g Frosch
		Dosis				
a	23 g	0,46 ccm	2	0,92	tot	0,04
b	31 „	0,62 „	1,5	0,92	tot	0,03
c	27 „	0,54 „	1,0	0,54	lebt	0,02
d	34 „	0,68 „	0,5	0,34	lebt	0,01

Also Titer in erster Näherung gleich Mittel von b und c
oder $= 0,025 \pm 20\%$. —

Jetzt bekommt Frosch

e 28 g 0,025 pro Gramm = 0,70 ccm und stirbt; also Titer
in zweiter Annäherung gleich Mittel von e und c oder

$$\frac{0,025 + 0,02}{2} = 0,0225 \pm 10\%.$$

Größere Genauigkeit ist nicht zu erreichen, denn: gibt man einer Serie jetzt 0,0225, so stirbt ein Teil und der andere überlebt, es tritt Streuung der Resultate ein.

Es hat keinen Wert, bei der ersten Annäherung engere Stufen, etwa das Dosenverhältnis 2,0 : 2,5 : 3,0 : 3,5 : 4,0 zu wählen; denn dann tritt die Streuung schon bei der zweiten Annäherung ein.

Der Empfindlichkeitszustand der Frösche wird mit Digitoxin crist. vom Normaltiter 0,0000035 von Zeit zu Zeit kontrolliert und eventuell korrigiert. Weibliche Tiere mit Laich verlangen eine Gewichtskorrektur von minus 33%.

Von einer Verwendung von mehreren Exemplaren von Fröschen für jede der Stufen a — e ist nichts an Genauigkeitszuwachs zu erwarten. Die Unterscheidung tot oder lebendig ist mit aller Schärfe zu treffen; es gibt hier streng genommen keinen Beobachtungsfehler. (Hingegen gewinnen die Zeitmethoden durch Vermehrung der Versuchstiere um so mehr an Schärfe, je kürzer die Beobachtungszeiten sind; denn je kürzer diese, desto mehr bedeutet hier der immer vorhandene Beobachtungsfehler, der dann tatsächlich nur statistisch eliminiert werden kann.)

Die Methode besticht durch ihre Einfachheit. Außerdem war die geringe Zahl von fünf Fröschen sehr verlockend. Ich dachte: wenn bei jeder Prüfung noch ein Standard nebenher geprüft wird, so wäre die jedesmalige Zahl von zehn Tieren immer noch nicht größer als bei meiner Methode.

Es wird also der Mittelwert zwischen der beobachteten geringsten tödlichen und der beobachteten höchsten nicht tödlichen Gabe gesucht, berechnet auf 1 g Froschgewicht. Diesen Wert nennt *Straub* (wohl allzu verallgemeinernd) die „Froschdosis“; ich möchte ihn in folgendem als „m. l. D.“ (minimal-letale Dosis) bezeichnen. Das Hauptbedenken war: wenn man sich nur auf das Ueberleben oder Sterben des einzelnen Frosches ober- und unterhalb der m. l. D. verlassen könnte! Daß das kaum möglich sein würde, darauf hatten meine früheren systematischen Versuche hingewiesen, die in den Tabellen meiner Arbeiten von 1913 und 1914 niedergelegt sind. *Straub* selbst deutet diese Unsicherheit an durch seine Worte über die „Streuung“. Auch behagte es mir nicht, daß ohne Anblick des Herzens nur die Munterkeit der Tiere für ihre Brauchbarkeit entscheiden sollte. Aber alle Zweifel wurden von *Straub*'s Zuversicht verdrängt. Obgleich mir nach der Heimkehr bei den bald begonnenen Versuchen sofort Unstimmigkeiten begegneten, hielt ich die Hoffnung fest, bei vollkommenerer Übung zu günstigen Ergebnissen zu gelangen. Im kohlenknappen Winter 1917/18 sprach noch der Umstand zugunsten der Methode, daß bei ihr das Laboratorium nicht stark geheizt zu werden brauchte.

Leider blieben die Enttäuschungen doch nicht aus. Sie waren am geringsten noch bei den Digitalisblättern. Bei zehn Prüfungen der Fol. Dig. titr. erhielt ich nur Schwankungen zwischen 0,00060 g (im November) und 0,00087 g (im Dezember) auf 1 g Froschgewicht. Der Durchschnitt war 0,0007 g, also sehr nahe der *Straub*-schen Zahl; denn sein Befund von 0,02 ccm für den 4%igen Auszug entspricht = 0,0008 g für die trockenen Blätter.

Anders war es schon bei dem Digitalisat Bürger. Seit Jahren betrachte ich die Dialsate der Digitalis als die am schwersten meßbaren Zubereitungen und als Prüfstein jeder Eichmethode. Beim Digitalisat entstanden jetzt fortwährend Schwierigkeiten.

Der Grund dafür liegt darin, daß die Tiere sich von einer Digitalisatvergiftung selbst hohen Grades verhältnismäßig leicht erholen. In den folgenden Beispielen setze ich die Zahl, mit der Straub die vermutete mittlere Dosis multipliziert und die ich als „Multiplikator“ bezeichne, auf die linke Seite, rechts das Ergebnis. Im Dezember erhielt ich mit einem Digitalisat-Muster folgende Reihe:

1,5	—	tot in 2 Stunden
1,3	—	tot in 4 ..
1,2	—	tot in 7 ..
1,1	—	} überleben, nachdem ihr Kreislauf vor und zum Teil noch nach der zwölften Stunde lange stillgestanden hatte!
1,0	—	
0,9	—	
0,7	—	überlebt, ohne daß äußerlich irgend eine Störung erkennbar war.

Bei den drei mittleren Tieren herrschte stundenlang folgender Zustand: sie reagierten kaum auf Kneifen, blieben auf den Rücken gedreht regungslos liegen und waren trotz heller Beleuchtung auf dem weißen Teller fast schwarz gefärbt. Aber später sprangen sie wieder hellgefärbt munter umher und blieben gesund. Daher mußte aus dieser Versuchsreihe, die keine sprunghafte Unregelmäßigkeit zeigte, die m. l. D. zwischen 1,2 und 1,1, also zunächst bei 1,15 angenommen werden. Weitere vergleichende Versuche zeigten jedoch, daß die m. l. D. zwischen 0,9 und 0,7, also bei 0,8 lag. Daraus geht hervor, daß die erste Prüfung, deren Ergebnis um 30% abwich, ganz irreführend war.

Nunmehr schien es doch nötig, eine größere Versuchsreihe anzustellen, und ich wählte dazu die Lösung von Digitoxin Merck, die mit absolutem Alkohol 1 : 1000 von Straub in meiner Gegenwart hergestellt und in Ampullen gefüllt mir gütigst überlassen worden war. Sie wurde vor der Prüfung vorschriftsmäßig mit 50% Alkohol auf 1 : 5000 verdünnt.

Vom Oktober 1917 bis Ende 1918 habe ich nach der zeitlosen Methode 60 Versuche ausgeführt, darunter 22 mit Digitoxin und zwar an durchschnittlich je 6 Tieren. Die Einspritzungen wurden gewöhnlich am frühen Morgen oder am Abend gemacht, so daß die möglichst häufige Beobachtung entweder auf die erste oder die zweite Hälfte des 24stündigen Zeitraumes fiel, der mir bis zum Abschluß wünschenswert schien.

Bei den Digitoxinversuchen bemerkte ich noch als einen Vorteil der Methode, daß der Unterschied zwischen Winter- und Sommerfröschen geringer ist als bei der kurzfristigen. Im übrigen zeigte sich auch beim Digitoxin manche Unregelmäßigkeit. Straub hatte als m. l. D. 0,0000035 angegeben. Ich erhielt niedrigere Zahlen (also höhere Werte) und zwar schwankend zwischen 0,0000033 (November) und 0,0000016 (März), durchschnittlich 0,0000024. Die Schwankungen an sich sind ja kein Fehler; sie lehren aber, daß neben dem unbekannten Präparat doch jedesmal ein Standard geprüft werden muß, damit der für ersteres gefundene Wert berichtigt werden kann. Dies hat ja auch Houghton für nötig gehalten.

Um ein möglichst klares Bild von den Leistungen der Methode zu erhalten, hatte ich beim Digitoxin die Zwischenräume zwischen den Multiplikatoren ziemlich klein gewählt, nämlich bei etwa 10%, so daß bei fünf Tieren die Gaben sich z. B. verhielten wie 1,2:1,1:1,0:0,9:0,8. Bei dieser Näherung tritt, wie ja Straub auch betont, die Streuung der Ergebnisse natürlich stärker auf als bei größeren Zwischenräumen. Daß ein Tier starb, während ein um 10% stärker vergiftetes überlebte, diese „Kreuzung“ der Ergebnisse, wie ich es nennen möchte, kam öfter vor. Zweimal war der völlige Tod des schwächer vergifteten Tieres schon nach 1½ bis 2 Stunden eingetreten (mit dem nach 12 Stunden erhobenen Befund der Starre des Herzens bei blasser zusammengezogener Kammer), während das stärker vergiftete außer einer vorübergehenden Mattigkeit überhaupt keine Störung zeigte. Eine gänzliche Verwirrung war aber an den folgenden drei Tagen zu sehen:

10. März 1918	28. März 1918	3. April 1918
1,2 tot	1,2 lebt	1,5 tot
1,1 lebt	1,1 tot	1,4 lebt
1,0 tot	1,0 tot	1,3 lebt
0,9 lebt	0,9 lebt	1,2 lebt
0,8 lebt	0,9 lebt	1,1 tot
0,7 tot	0,8 tot	1,0 lebt
	0,8 tot	
	0,7 lebt	
	0,6 lebt	

Bei diesen drei Versuchsreihen reichten also 6—9 Tiere nicht aus, um eine m. l. D. zu finden. Wenn aber jedesmal nur 5 Tiere benutzt und die Multiplikatoren zufällig etwas anders gewählt worden wären, so hätte man jedes Mal die m. l. D., entweder an einer höheren oder einer niederen Stufe als festgestellt ansehen können. Hebt man aus den drei Reihen die widersprechendsten Zahlen heraus:

10. März	28. März	3. April
1,1 lebt	1,2 lebt	1,4 lebt
0,7 tot	0,8 tot	1,1 tot,

so haben die überlebenden Tiere um 25—30% stärkere Gaben erhalten als die gestorbenen. Daraus ist auf einen Fehlerspielraum von mindestens 40% ($= \pm 20\%$) zu schließen. Die von Straub bei einer Näherung von 10% angenommene Streuung kann also schon bei Multiplikatoren von 2,0 : 1,5 in erster Näherung auftreten; und jedenfalls ist die „statistische“ Mitwirkung einer viel größeren Froschzahl unentbehrlich.

Nach allem mußte ich mir mit großem Bedauern aufs neue sagen, daß es ganz unmöglich ist, mit einer verhältnismäßig kleinen Froschzahl durch eine langfristige Methode ein annähernd sicheres Ergebnis zu gewinnen. Unzweifelhaft ist Houghton, der seine Methode zwei Jahrzehnte lang gebraucht hat, im Recht, wenn er auf eine solche Wertmessung wenigstens 24 Tiere rechnet. Nebenbei wäre, wenn man die überlebenden Tiere ein zweites Mal verwenden will, noch eine Untersuchung darüber nötig, welche zeitlichen und anderen Voraussetzungen dann für die Erholung erfüllt sein müßten.

c) Gottlieb's neuere Arbeiten.

Aus den Veröffentlichungen, die R. Gottlieb im Jahre 1917 geliefert hat, konnte auch eine Förderung der vorliegenden Frage erwartet werden. Gottlieb hatte zunächst festgestellt, daß bei weißen Mäusen die intravenös eingespritzten Digitalisstoffe (K-Strophanthin, g-Strophanthin und Digitannoid) ziemlich schnell aus dem Blut verschwinden. Falls die Vergiftung nicht letal war, folgt bei diesen Tieren von der 20. Minute ab schon die Erholung. Das weitere über die Erholung hat er dann gerade an denjenigen Tieren untersucht, die hier in Betracht kommen, nämlich an Temporarien. Der Vorgang kann einfach als eine „Entgiftung“ bezeichnet werden. Schon das isolierte Temporarienhertz kann sich von einer kräftigen Digitalisvergiftung erholen. Aber noch erheblicher ist diese Fähigkeit beim ganzen Tier, wo die anderen Organe mithelfen; besonders nach subkutaner Vergiftung mit Grenzdosen, die den systolischen Stillstand noch eben zu bewirken pflegen, wird die Herzfähigkeit häufig wieder hergestellt. Die Entgiftung muß natürlich sehr von der größeren oder geringeren Lebhaftigkeit des Stoffwechsels der entgiftenden Organe, z. B. der Leber, abhängen. Diese Lebhaftigkeit des Stoffwechsels schwankt aber mit der individuellen und jahreszeitlichen Beschaffenheit der Tiere; daher liegt in der schwankenden Entgiftung die entscheidende Erklärung dafür, daß erstens bei den Grenzdosen die Dauer der Vergiftung so stark schwankt, und zweitens dafür, daß gerade nach den Grenzdosen bei vorher gleichartig erscheinenden Tieren die Entscheidung bei dem einen für Tod, bei dem anderen für Erholung fällt.

Betrachtet man die verschiedenen Grade der Vergiftung, so bringt Gottlieb kein Beispiel für das Verhalten nach denjenigen Dosen, die bei der Versuchsordnung meiner Methode in durchschnittlich 12—15 Minuten den Stillstand dauernd herbeizuführen pflegen. Aus der Tatsache, daß auch hier ausnahmsweise eine Erholung vorkommt, ist zu schließen, daß die Entgiftung bei Temporarien schon in der ersten Viertelstunde beginnt. — Gottlieb hat die Vergiftung besonders mit den schwächeren, eben noch bei 30—45 Minuten zum wenigstens zeitweisen Stillstand führenden Grenzdosen untersucht. Bei diesem Vergiftungsgrad (falls ein wasserlösliches Glykosid der Gitalingruppe oder Digitannoid gegeben war), kommen Winterfrösche häufig, Sommerfrösche fast immer zur Wiederkehr der bereits ausgebliebenen Pulse. — Vom Digitoxin crist. entgiften sich die Tiere in geringerem Maße. Wenn Gottlieb gefunden hat, daß diejenige Dosis, die in der Ueberzahl der Fälle noch zu einem, wenn auch oft nur vorübergehenden Stillstand führt, kleiner war als die m. l. D., die den Stillstand sicher dauernd herbeiführt, so ist das ganz folgerichtig. Ich habe dasselbe mit Digitalysat gefunden.

Um nun zu einem Urteil über die Prüfungsmethoden zu kommen, stellt Gottlieb obige Befunde zusammen mit anderen, die er bezüglich der Resorbierbarkeit erlangt hatte. Hierbei war seine Versuchsanordnung neu: er gewann den, nach einer gewissen Zeit in den Lymphsäcken noch vorhandenen Giftrest durch Aus-

spülung zurück und bestimmte dessen Wert an isolierten Temporariaherzen. Es fand sich, daß Gitalin und Digitannoidlösungen in den Lymphsäcken nach 30 Minuten, Blätterinfuse nach 60 Minuten noch einen Giftrest zurücklassen. Von den erstgenannten Lösungen erschienen die Lymphsäcke nach 60 Minuten immer so gut wie giftfrei, während sich vom Infus meistens nach zwei Stunden noch ein schwacher Rest fand. Bei alleiniger Rücksicht auf diesen Befund wäre Gottlieb im Recht, wenn er schließt, daß für die gut resorbierbaren Präparate eine einstündige, für die langsamer resorbierbaren Infuse und alkoholischen Blätterauszüge eine zwei-stündige Beobachtungsmethode passend sei. Damit hat er aber alle seine vorherigen Befunde über die Entgiftung außer acht gelassen; und diese sind m. E. die wichtigeren. Man muß bedenken: der Giftrest ist nicht nachteilig, wenn er in ziemlich gleichmäßiger Größe vorhanden ist und auch ziemlich gleichmäßig schwindet. Daß dieses beim Infus der Fall, d. h. daß dessen Resorption bei nahezu allen Stärkegraden im Anfang auffallend gleichmäßig verläuft, haben alle meine früheren Arbeiten, besonders die Valorzahlen meiner Tabelle B vom Jahre 1913 gezeigt (3a, S. 306). In dieser ist auch bezüglich der Streuung zu sehen, wie bei den Tieren mit stärkeren Dosen, die nur einer kurzen Beobachtung bedurften, die Zeiten ziemlich nahe beieinander lagen (im folgenden Auszug die mit a bezeichneten Reihen), während bei den Tieren mit schwachen Dosen die Zeiten so weit verstreut lagen (nachstehend b), daß eben nach 1—2 Stunden immer noch einzelne mit ∞ bezeichnete Herzen weiterschlügen, deren volle Erholung nicht abgewartet wurde.

In Lösungs- gruppe	Eingespritzte relativ zum	Flüssigkeitsmenge Froschgewicht	Kammerstillstände nach Minuten
1 : 10	a	$\frac{1}{40}$	11 — 10 — 9 $\frac{1}{2}$ — 8 $\frac{1}{2}$
	b	$\frac{1}{200}$	∞ — 30 — 20 — 16
1 : 15	a	$\frac{1}{40}$	18 — 15 — 13 — 9
	b	$\frac{1}{120}$	∞ — 26 — 17 — 14 $\frac{1}{2}$
1 : 30	a	$\frac{1}{40}$	23 — 17 $\frac{1}{2}$ — 13
	b	$\frac{1}{60}$	∞ — 48 — 22

Bei den schwächeren Einspritzungen sehen wir frühzeitige Dauerstillstände neben Fällen von Ueberleben, d. h. Entgiftung. Und diese starke Streuung lehrt eindeutig, daß eine langfristige Methode unmöglich an einer kleinen Tierzahl durchgeführt werden kann.

Wenn nicht von früher her Gottlieb's ängstliches Bedenken gegen die vermeintliche Ungleichmäßigkeit der Resorption bekannt wäre, so könnte man es nach seiner jetzigen Aufklärung über die noch viel ungleichmäßigere Entgiftung nicht verstehen, wie er trotz letzterer noch eine Ein- bis Zweistunden-Methode als Regel empfehlen und sogar die zeitlose noch als möglicherweise gleichberechtigt hinstellen kann. Praktisch liegt der Schluß viel näher: wenn man nicht eine sehr hohe Zahl von Fröschen zur langfristigen Untersuchung bringen kann und will, so muß man kurze Fristen wählen, um nicht in die großen Nachteile der ungleichmäßigen Entgiftung zu geraten.

d) Ginzberg und Hohlberg.

Als ich auf diese Weise zu meiner bewährten kurzfristigen Methode zurückgekehrt war, erinnerte ich mich einer Arbeit, die von Prof. A. Ginzberg und I. Hohlberg in Petersburg, vermutlich deutschen Forschern, stammt (5).

Ich hatte sie im Anfang des Krieges kennen gelernt und dann wegen der Unruhe der Zeit zunächst beiseite gelegt. Obgleich den beiden Verfassern die Entgiftung ja noch nicht so bekannt war, wie sie es heute ist, haben sie bezüglich des Verhältnisses zwischen der lang- und der kurzfristigen Methode einige beachtenswerte Tatsachen festgestellt.

Zunächst hatten sie sich vorgenommen, ein konstantes Präparat als Standard zu finden. Das Helleborein, dann besonders das g-Strophanthin (Ouabain) und das Erythrophlein wurden geprüft. Mit den beiden ersteren kamen sie nicht zum Ziel, weil die Tierreaktionen den Lösungstärken nicht parallel gingen, wie ich das vom g-Strophanthin ja auch gefunden hatte. Mehr Befriedigung brachte ihnen das Alkaloid Erythrophlein, das sie zuerst als salzsaures, später als schwefelsaures Salz prüften. Sie fanden, daß eine Lösung von 1 : 1200 (jedenfalls ist Volumen gemeint) den Valor von etwa 4,34 gibt, den ein 10% Inf. Fol. Dig. titr. unter günstigen Umständen zu haben pflegt. „Nach der Methode von Focke verliefen die Versuche mit Erythrophlein tadellos und stets typisch“ (S. 562 Anm. und S. 575 unten), während sie nach der Methode von Houghton unregelmäßig endeten. Als die beiden Methoden nebeneinander geprüft wurden, erschien die Focke'sche immer als zuverlässiger. Sie zeigte z. B. an einer frischen (wahrscheinlich nicht scharf getrockneten) Blätterprobe bei monatlicher Nachprüfung vom September 1910 bis Mai 1911 „konsequent und empfindlich genug die stufenweise Erniedrigung der Qualität“; dagegen gab die Methode von Houghton einen solchen Hinweis gar nicht, ließ vielmehr das Präparat im zweiten und dritten Monat als stärker geworden erscheinen.

Um wenigstens einmal mit einem Standard gleichmäßige Resultate nach Houghton zu erhalten (S. 583, 584), injizierten sie an vier Tagen jedesmal zwei gleichen Reihen von je fünf Fröschen von 18 bis 20 g genau die gleiche Dosis vom Extract, fluid, Digitalis (Parke, Davis u. Co.), nämlich 0,0013 g auf je 1 g Froschgewicht. Diese Dosis hatte bei einer vorhergehenden Prüfung unter fünf Fröschen vier getötet. Und da nach Houghton die m. l. D. diejenige Dosis ist, die von fünf Fröschen mindestens drei tötet, falls die Frösche an Gewicht um nicht mehr als 3 g voneinander abweichen, so war 0,0013 die m. l. D., und es hätten in jeder Reihe mindestens drei Frösche tot bleiben müssen. Statt dessen ergab sich folgendes:

	6. Mai		10. Mai		16. Mai		23. Mai	
	Reihe	Reihe	Reihe	Reihe	Reihe	Reihe	Reihe	Reihe
	a	b	a	b	a	b	a	b
lebend	3	2	2	5	3	5	4	3
tot	2	3	3	0	2	0	1	2

An den beiden mittleren Tagen zeigte also die Reihe a ein ungefähr richtiges, b ein ganz falsches Bild. Das entspricht dem oben über die Streuung Gesagten.

Nun hatten Ginzberg und Hohlberg, obgleich sie ja mit meiner Methode im allgemeinen einverstanden waren, daran noch dreierlei auszusetzen.

Zuerst mißbilligten sie es, daß ich die Fol. titr. als Standard benutzte. Aber bei den von ihnen an Fol. titr. mitgeteilten Schwankungen können leicht Fehlerquellen mitgewirkt haben. Abgesehen von den stets mit den Fol. titr. zufrieden gewesenen Klinikern haben in neuerer Zeit mehrere Pharmakologen gerade die auffallende Gleichmäßigkeit der Fol. titr. bekundet, wie z. B. Lehnert und Loeb (13), Heffter (10) und Straub (23 b).

Im übrigen hätte ich selbst schon gerne einen chemischen Körper als Standard herangezogen, wenn sich der Erfüllung dieses Wunsches nicht immer wieder Hindernisse entgegengestellt hätten. Das Digitoxin war wegen seiner Wasserunlöslichkeit für eine kurzfristige Methode unbrauchbar. Das von mir im Jahre 1913 schon in Betracht gezogene Gitalin mußte zurückgesetzt werden, weil es sich als Gemenge herausstellte. Die Lösungen des k-Strophanthins sind nach Thoms (24) und Holste (11) selbst in sterilen Ampullen nicht haltbar. Als allgemeine Schwierigkeit ist dann aber das Folgende immer klarer geworden: wie der Froschwert eines Glases der unveränderlichen Fol. titr. in jedem Jahr eine gewisse Kurve durchläuft auf Grund der jahreszeitlichen Schwankungen in der Reaktionsfähigkeit der Frösche, so gibt es auch bei jedem Reinpräparat eine Jahreskurve; und nur dasjenige würde dauernd als Standard brauchbar sein, dessen Froschkurve mit der der Fol. titr. parallel verläuft! Ein solches Präparat ist aber noch nicht bekannt. Daß die Kurve beim k-Strophanthin diese Forderung nicht erfüllt, hat Meyer (16, S. 265) gezeigt. Dasselbe ging für das g-Strophanthin schon aus früheren Befunden von Gottlieb hervor, die durch seine neueren Feststellungen über den andersartigen Ablauf der Entgiftung bestätigt werden. Deshalb betont Storm van Leeuwen mit Recht, daß die uneingeschränkte Aufstellung des Ouabains (d. i. g-Strophanthin) als Standard in der neuen amerikanischen Pharmakopöe verkehrt ist (20, S. 19). — Das Erythrophlein, das den großen Vorteil bietet, gut wasserlöslich und in Lösung gut haltbar zu sein (15), ist von mir im letzten Winter ein paar Monate lang versucht worden; aber ob es wegen seiner Froschkurve unbeschränkt brauchbar ist, muß ich noch bezweifeln. Pick und Wasicky in Wien (17) haben das Cymarin-Bayer benutzt, das nach meinen Versuchen in seiner Stärke den Digitalisglykosiden nahe steht; und dasselbe wurde auch unter Tschirch in Bern von Wolter gebraucht (26, S. 9). Aber eine Feststellung seiner Froschkurve fehlt noch. Kurz: einen einwandfreien chemischen Standard haben wir noch nicht. Aber an dieser Nebenfrage darf die Einführung der physiologischen Prüfung nicht scheitern. Man kann sehr wohl für die zu prüfenden Blätter die ganz gleichmäßig bleibenden Fol. Dig. titr. als Standard in den ersten ein bis zwei Jahren beibehalten; wie auch Storm van Leeuwen sagt,

daß einstweilen „een infuus alleen tegen een infuus . . . kan worden geijkt“ (20, S. 34). Bei genauerer Kenntnis der Reinpräparate wird man gewiß bald ein als Standard geeignetes finden, möglicherweise eins für den Sommer, ein anderes für den Winter; das kann dann in einem Nachtrag dem Arzneibuch eingefügt werden.

Ferner hat es Ginzberg und Hohlberg nicht gefallen, daß ich im Jahre 1910 für die Wintermonate noch das Aufsuchen des Temperatur-Optimums empfohlen hatte. Diese Empfehlung war auch von mir bald als überflüssig erkannt worden, wenn nur überhaupt im Winter die Tiere genügend erwärmt werden und jedesmal ein Standard mitgeprüft wird. Demnach habe ich das Temperatur-Optimum längst aufgegeben (3 a, S. 296).

Drittens wird meine früher angeratene Veränderung der Grunddosis um $\pm m$ getadelt. Diese hat mir zwar keinen Fehler gebracht, und auch Joannin-Paris hat mit einer an die Herzfähigkeit angepaßten geringen Erhöhung oder Erniedrigung der Dosis gute Erfahrungen gemacht (12). Aber notwendig ist diese Anpassung der Dosis nicht. Der Vorwurf, daß bei solchem Vorgehen manchmal das persönliche Gefühl mitspreche, war berechtigt. Und da die Methode ja etwas Unpersönliches werden sollte, so habe ich seit der systematischen Prüfung des Jahres 1912/13 auch die Anpassung der Dosis fallen gelassen (3 b, S. 455 u. f.) und spritze seitdem vom 10%igen Infus grundsätzlich nur noch $\frac{1}{50}$ des Froschgewichts ein. Auch bei der Berechnung wird kein Tier ausgeschaltet, es sei denn, daß der Herzstillstand ausnahmsweise erst nach der 30. Minute eintritt, weil nachher der entscheidende Zeitpunkt nicht mehr scharf genug erkennbar ist.

Trotzdem diese geringen Mängel der kurzfristigen Methode damals noch anhafteten, hatten Ginzberg und Hohlberg mit ihr den besten Erfolg. Sie meinten, daß die Methode leicht von ihren kleinen Fehlern befreit werden könne; und sie hielten sie mit aller Bestimmtheit den anderen Methoden für überlegen, weil sie „die empfindlichste, die genaueste und am bequemsten durchführbar“ sei (S. 605). Diese Vorzüge haben sich noch weiter befestigt, besonders seitdem ich mehr als früher darauf achte, daß alle zu derselben Prüfung (einschließlich Standard) benutzten Tiere ein möglichst um nicht mehr als 5 g voneinander abweichendes Gewicht besitzen. Den Fehlerspielraum der Methode schätze ich auf nur $\pm 5\%$.

e) N a c h l e s e.

Es ist immer mein Bemühen gewesen, allen Prüfungsmethoden gerecht zu werden. Ginzberg und Hohlberg haben sich sogar gewundert (1 c, S. 581), daß ich im Jahre 1910 noch die Brauchbarkeit der Zwölfstunden-Methode anerkannt hatte (2, S. 369). Da sich aber jetzt die Beweise dafür gehäuft haben, daß eine langfristige Methode unbedingt einer sehr großen Zahl von Tieren bedarf, und nachdem über die dazu führenden Ursachen durch die Gottlieb'sche Entgiftungslehre die nötige Klarheit gebracht ist, so muß ich eben für die praktische Messung der Blätter an der kurzfristigen Methode als der zweckmäßigsten festhalten. Darin bin ich auch noch bestärkt worden durch die Mitteilungen von

Santesson in Stockholm, welcher sagt (19, S. 20), er habe bei seinen intravenösen Versuchen „offenbar die besten, regelmäßigsten Resultate mit denjenigen Dosen erhalten, die das Herz in 14—15 Minuten zur Ruhe brachten“.

In Stockholm hat auch der Chefapotheker Hamner in den Jahren 1914/15, nachdem er bei mir die kurzfristige Methode gesehen hatte, mit ihr zahlreiche Digitalispräparate geprüft, besonders Blätter aus schwedischen Apotheken (8). Seine Veröffentlichungen, die mir in deutscher Uebersetzung von ihm zugänglich gemacht wurden, bestätigen meine früheren Befunde. Leider begnügt er sich oft mit nur drei gut reagierenden Tieren. Dadurch kann seine Zufriedenheit mit der Methode leicht gestört werden; denn vier gute Reaktionen (neben denen des Standards) halte ich doch für die geringste zulässige Zahl. Aus seiner zweiten Arbeit ist die Feststellung beachtenswert, daß kultivierte Pflanzen sehr gute Werte ergaben, wie das ja auch von anderen Seiten vor und nach ihm gefunden wurde¹⁾; dagegen fand er, daß die als Zierpflanzen gezogenen Sorten geringwertig waren. Ich hatte früher die kultivierten Pflanzen im allgemeinen als minderwertig beurteilt: aber die Pflanzen, von denen meine Proben stammten, waren schon viele Jahre lang im Garten fortgezüchtet worden, so daß man sie auch als Zierpflanzen bezeichnen darf. Ich muß also den Schluß ziehen, daß kultivierte Pflanzen durchaus gut sein können, daß sie aber an Kraft verlieren, wenn sie lange Jahre hindurch an demselben Platz fortgezüchtet wurden. — In der dritten Arbeit schildert Hamner die bedeutende Verschlechterung, die die gewöhnlichen Blätter der Apotheken in 1½ Jahren zu erleiden pflegen, wodurch wieder meine erste Angabe von 1903 über das „vorzeitige Altern“ der schlecht getrockneten Droge bestätigt wird.

Daß ein Standard auch bei der langfristigen Methode nötig ist, hat Baker-Indianapolis bestätigt (1). Andererseits hat unter Robert's Leitung Herbert Walter diese Kontrolle leider unterlassen (25); deshalb müssen seine Befunde mit derselben Vorsicht aufgenommen werden wie die von Weis, deren Unstimmigkeiten ich früher nachgewiesen habe (3 a, S. 268).

Nebenbei mehren sich die Stimmen, die auch die von mir vor etwa 10 Jahren behauptete Brauchbarkeit der einjährigen Blätter bestätigen. So hat Lloyd (14) geäußert, er habe während der letzten 15 Jahre keinen anderen Vorteil der zweijährigen vor den einjährigen Blättern finden können, als daß die im zweiten Jahre des Wachstums gewonnene Menge eben größer war. Auch Arthur Meyer in Marburg ist zu der Ueberzeugung gekommen, daß es bei großen Aussaaten gleichgültig ist, ob man im ersten oder zweiten Jahr sammelt (23 a, S. 202). Das wird durch Straub weiter befestigt (23 b). Nur erreichen die einjährigen Blätter, meinen früheren Versuchen zufolge, ihre größte Wirksamkeit erst in den Herbstmonaten.

Endlich ist wieder von mehreren Seiten die vorzügliche Haltbarkeit richtig konservierter Blätter betont worden. So fanden

¹⁾ Z. B. Mac Ewan (2, S. 368) und Straub (22).

Pick und Wasicky (17) eine acht Jahre alte Probe, Hatcher und Eggleston sogar eine solche von 25 Jahren noch gut wirkend (9). Dem entspricht meine eigene Beobachtung, die bei titrierten Blättern von 1903 nach 13 Jahren noch keine Wertänderung ergab. Auch hat mir vor kurzem Herr Prof. Magnus in Utrecht gütigst mitgeteilt, daß in seinem Institut seit 10 Jahren aufbewahrte Folia Dig. titr. noch die gleiche Wirksamkeit hatten wie ein frisch bezogenes Präparat. Die lange Haltbarkeit des künftig physiologisch geprüften Blätterpulvers kann also nicht mehr bezweifelt werden.

Zum Schluß dürfen zwei Prüfungsvorschläge, die im Hinblick auf das Arzneibuch veröffentlicht worden sind, nicht unerwähnt bleiben. Dem einen zufolge scheint Straub seit unserer Besprechung im Herbst 1917 die wünschenswerten systematischen Kontrollprüfungen seiner oben geschilderten Methode leider nicht fortgeführt zu haben. Sonst hätte er unfehlbar ihre Schwächen erkannt, und dann wäre es nicht zu dem von Fühner und Straub gemachten Vorschlag gekommen, der auf die zeitlose Methode mit Benutzung einer kleinen Tierzahl hinausläuft (4). Danach sollen von dem bestimmten Blätterauszug „0,5 ccm eben hinreichen, um einen männlichen Grasfrosch von 20 g Gewicht . . . zu töten“. Aber nach allem hier Dargelegten müßten einer solchen Vorschrift die schwersten Bedenken entgegenstehen: ein einziger, durch Streuung weit abweichend reagierender Frosch könnte unter Umständen veranlassen, daß 100 oder mehr Kilogramm guter Blätter verworfen würden, oder daß eine ebensolche Menge minderwertiger Blätter zugelassen würde, um bei Tausenden von Kranken ungenügend zu wirken.

Demgegenüber wäre der andere Vorschlag, den Oberapotheker Rapp in München (18) gemacht hat, eher annehmbar. Rapp hat längere Zeit die Ein-Stundenmethode ausgeübt. Es ist nicht zu bestreiten, daß sie technisch etwas leichter ausführbar ist als meine; auch würde ihre Aufnahme in das D. A.-B. den Vorteil bringen, daß mit ihr die international einheitliche Messung um einen Schritt gefördert würde, weil die Methode jetzt schon in der amerikanischen Pharmakopöe festgelegt ist. Aber da die Methode eben zwischen der kurz- und langfristigen liegt, so muß man sich darüber klar sein, daß ihr auch bereits ein Nachteil der letzteren anhaftet, nämlich die breitere Streuung. Sie erfordert also eine längere Untersuchungszeit und den Aufwand einer größeren Tiermenge. Diese Forderung wird von Rapp auch anerkannt, und sie ergibt sich ebenso aus der amerikanischen Pharmakopöevorschrift.

Schlusfolgerungen.

1. Zur physiologischen Wertmessung von Digitalisblättern ist in Deutschland die subkutane Einspritzung an Temporarien am besten geeignet. Aber eine für alle Zwecke gleiche Methode zur Ausführung dieses Verfahrens kann es nicht geben. Denn a), wo die absolute Toxizität eines Digitalispräparates (also auch der Blätter) zu rein wissenschaftlichen Zwecken gesucht werden soll,

ist eine langfristige, d. h. Zwölf-Stunden- bis zeitlose Methode nötig. Sie erfordert mehrere Tage und sehr viele Tiere. Wenn man deren Menge begrenzt oder wenn man auf eine gleichzeitige Standardprüfung verzichtet, so entsteht die Gefahr der Unzuverlässigkeit.

b) Wo es sich vorwiegend um praktische Zwecke handelt, wie bei der Wertung der zahlreichen Blätterproben für die Apotheken, da muß mit möglichst geringem Aufwand von Zeit und Tieren gearbeitet werden. Am besten wäre hier die kurzfristige Methode. Sie ergibt zwar nur relative Werte; aber diese sind, wenn der Untersucher in ihr genügende Uebung hat, mindestens ebenso genau wie die nach einer langfristigen Methode erhaltenen. Die an der kurzfristigen Methode in den letzten Jahren noch vorgenommenen Verbesserungen sind in der vorliegenden Arbeit (unter II d) angeführt.

c) Falls die kurzfristige Methode für das D. A.-B. als zu schwierig erscheinen sollte, so kann nur die Methode mit der nächsthöheren Zeitgrenze zur Wahl kommen, d. h. die Ein-Stundenmethode. Der Nachteil, daß sie in jedem Fall eines längeren Zeitaufwandes und einer größeren Tierzahl bedarf, müßte dann in Kauf genommen werden.

2. Die physiologische Prüfung sollte zunächst nur für das wichtigste Mittel, für die Folia Digitalis vorgeschrieben werden, weil anderenfalls die Erledigung der Aufgabe unnötig erschwert und verschoben würde.

3. Die Prüfungen sollten in Deutschland einer einzigen Stelle, nämlich der Biologischen Abteilung eines akademischen Instituts übertragen werden, das nicht unbedingt in oder bei Berlin zu liegen braucht. Mit ihrer Ausführung oder Leitung sollte nur ein auf diesem Gebiet gründlich Erfahrener beauftragt werden.

4. Unter der letzterwähnten Voraussetzung braucht die Ausführung der Prüfung nicht im Arzneibuch beschrieben zu werden. Da jedoch für die in Betracht kommende (die kurzfristige oder die Ein-Stunden-) Methode ein 10%iges Infus der zweckmäßigste Blätterrauszug ist, so sollte dessen Bereitung genau vorgeschrieben werden¹⁾. Ferner ist vorzuschreiben, daß die als Standard während der ersten ein bis zwei Jahre noch zu benutzenden Fol. titr. einem der kleinen Originalgläser zu 25 g entnommen werden, und daß

¹⁾ Ich kann die Vorschrift, zu der ich nach Erprobung aller anderen Vorschläge immer wieder zurückgekehrt bin, nur empfehlen: „Von den mittelfein gepulverten Blättern werden 2 g mit 24 g kochenden Wassers, denen 8 Tropfen einer 5%igen wässerigen Sodalösung zugesetzt waren, in einem kleinen (für 30 g bestimmten) Porzellansalbentopf übergossen; der Salbentopf steht in einem Gefäß, das bis zur halben Höhe des Salbentopfes mit soeben gekochtem Wasser gefüllt ist. Nach dem Uebergießen des Pulvers wird sofort mit einem Glasstab gründlich und schnell durchgerührt, dann dicht verschlossen. Nach einer halben Stunde wird durch Leinwand geseiht und abgepreßt.“ Es ergeben sich gewöhnlich genau 20 ccm. Einen etwa fehlenden Bruchteil hatte ich in den ersten Jahren noch mit Wasser ergänzt; das ist zu unterlassen.

das Glas sofort wieder zu schließen ist. Wenn in den nächsten Jahren durch die weitere Untersuchung der Reinpräparate ein gefunden wird, dessen Jahresfroschkurve der der Fol. titr. parallel verläuft, so wäre eine bestimmte Lösung dieses Präparates in einem Nachtrag zum Arzneibuch an die Stelle der Fol. titr. zu setzen.

5. Bei Aufnahme der physiologischen Prüfung für die Folia Digitalis würde sich von selbst die Vorschrift ergeben, daß die Blätter nur als mittelfeines Pulver in braunen Gläsern von nicht über 100 g luftdicht verschlossen aufzubewahren sind (Korken mit Paraffinverschluß). — Dafür müßten die bisherigen Vorschriften über die Jahreszeit der Blätterernte und bezüglich der Forderung wildwachsender Pflanzen wegfallen.

Die Dauer der erlaubten Aufbewahrung des Blätterpulvers kann auf mehrere, mindestens drei Jahre ausgedehnt werden.

Die Gleichmäßigkeit der bekanntlich nicht so gut haltbaren Tinctura Digitalis würde ohne physiologische Prüfung ausreichend gewährleistet durch die Vorschrift, daß die Tinktur aus den geprüften Blättern des Arzneibuchs bereitet und nicht länger als ein Jahr aufbewahrt werden soll.

L i t e r a t u r.

1. Baker, W. F., How far variations in frogs can be obviated by the use of ouabain. Am. Journ. of Pharm., June 1912. — 2. Focke, C., Archiv der Pharmazie 248. Bd. (1910), S. 345—376. — 3a. Derselbe, Die Weiterentwicklung der physiologischen Digitalisprüfung. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie. 14. Bd. (1913). — 3b. Derselbe, Weitere Schritte zur Gleichmäßigkeit der offiziellen Digitalispräparate. Dieselbe Zeitschrift 16. Bd. (1914). — 4. Fühner, H., und Straub, W., Sollen in das neue Arzneibuch pharmakologische Wertmessungen der Arzneimittel Aufnahme finden? Deu. Med. Wo. 1918, No. 37, S. 1017. — 5. Ginzberg, A., und Hohlberg, I., Zur Frage der Standardisation (Normierung) von Herzmitteln. Comptendu du XI. Congrès internat. de Pharmacie, Haag 1913, T. I., S. 559 bis 613. — 6. Gottlieb, R., Ueber die Aufnahme der Digitalis-substanzen in die Gewebe. Archiv für experim. Pathologie und Pharmakol. (1917), S. 1—29. — 7. Derselbe, Ueber den Vergiftungs- und Entgiftungsvorgang bei der Digitalisvergiftung des Frosches, als Grundlage zur Beurteilung der Auswertungsmethoden. Archiv f. experim. Path. u. Pharm., 83. Bd. (1918), S. 117—155. — 8. Hamner, I. W., Digitalisundersökningar. Svensk Farmaceutisk Tidskrift 1914, S. 249 bis 254, und S. 585—589, und 1915, S. 69—74. — 9. Hatcher, R. A., und Eggleston, C., Observations on the keeping properties of digitalis and some of its preparations. Am. Journ. of Pharmacie, May 1913. — 10. Heffter, A., Zur Wertbestimmung der Digitalisdroge. Berliner Klin. Wo. 1917, No. 28. — 11. Holste, A., Zur Strophanthinfrage. Zeitschrift f. experim. Path. u. Ther. 19. Bd. (1917). — 12. Joannin, A., Le Titrage physiologique des Tonicardiaques. Comptendu du XI. Congrès internat. de Pharmacie, Haag 1913 T. I S. 614 bis 640. — 13. Lehnert, A., und Loeb, O., Physiologische Wertbestimmungen einiger Digitalis-Präparate. Therapeut. Monatshefte 28. Jgg. (1914) S. 164—170. — 14. Lloyd, J. U., Treatise of Digitalis. Am. Journ. of Pharm. May 1913, S. 220. — 15. Merck, E., Jahresbericht. 25. Jgg., 1912, S. 97 ff. — 16. Meyer, Ernst, Die Aktivglykoside von Digitalisblättern verschiedener Abstammung usw. in quantitativer Messung. Archiv f. experim. Path. u. Pharm. Bd. 81

(1917), S. 261–288. — 17. Pick, E. P. und Wasicky, R., Zur Digitalisfrage. Wiener Med. Wo. 1917, No. 6, S. 290. — 18. Rapp, Ueber Haltbarkeit von Digitalispräparaten des Handels. Pharmazeut. Centralhalle 1917, No. 40, S. 479–481. — 19. Santesson, C. G., Die Methoden für experim. Prüfung der Stärke der Digitalispräparate. Nordiskt Medicinskt Arkiv 1915, Abt. II, No. 1. — 20. Storm van Leeuwen, W., Physiologische waardebepalingen van geneesmiddelen. Dissertation, Haarlem 1919. — 21. Straub, W., Die Mengen der wirksamen Bestandteile in Digitalissamen und Digitalisblatt. Archiv f. experim. Path. u. Pharm., Bd. 80 (1916), S. 52–71. — 22. Derselbe, Digitalisblatt und pharmazeutische Digitalispräparate in quantitativer Zusammensetzung. Mü. Med. Wo. 1917, No. 16, S. 513 bis 515. — 23. Derselbe, Ueber Digitaliskultur. Archiv der Pharmazie. a) 255. Bd. (1917), S. 198; b) 256. Bd. (1918), S. 196. — 24. Thomas, H., Arbeiten aus dem pharmaz. Institut der Univ. Berlin XI. Bd., 1914, S. 179. — 25. Walter, H., Ueber die Bewertung der Digitalispräparate mit Hilfe biologischer Methoden. Dissertation, Rostock 1914. — 26. Wolter, F., Die chemische Wertbestimmung der Digitalis. Dissertation, Bern 1918.

Ueber einige Inhaltsstoffe der Altheewurzel.

Von Oscar v. Friedrichs.

(Eingegangen den 19. IV. 1919.)

Die Altheewurzel gehört trotz ihrer uralten und massenhaft pharmazeutischen und auch medizinischen Verwendung noch zu den in chemischer Hinsicht unvollständig studierten officinellen Drogen. Es liegt über die Natur ihrer Bestandteile nur eine recht beschränkte Anzahl von Arbeiten vor, und von diesen ist kaum eine einzige in neuerer Zeit erschienen.

Die bis jetzt bekannten Bestandteile, über deren Anwesenheit kein Zweifel herrscht, sind, wenn von Pektinstoffen und Aschebestandteilen abgesehen wird, Schleim, Stärke, Asparagin, Zuc und fettes Oel, während die Gegenwart von Betain und einem Lecithin nach den Untersuchungen von Orlov¹⁾ sehr wahrscheinlich ist. Ueberdies enthält die Wurzel ein Enzym mit nicht näher angegebenen Eigenschaften, während die von L. Meier²⁾ erwähnte Aepfelsäure keine Bestätigung gefunden hat.

Die vorliegende Untersuchung hatte zunächst den Zweck, die Zusammensetzung des fetten Oeles zu erforschen und den Zucker sowie besonders den Schleim näher zu studieren; außerdem schien eine Kenntnis des Lecithins und des Bestandteiles, welcher der Droge ihren charakteristischen Geruch erteilt, von Interesse zu sein.

¹⁾ Pharm. Ztschr. f. Rußl. 36, 631 (1897), durch Pharm. Zentralh. 38. 857 (1897).

²⁾ Jahrb. f. d. Pharm. 12, 297 (1826).