

V.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Die Mengen der wirksamen Bestandteile in Digitalissamen und Digitalisblatt.

(Zur Kritik von Digitalisinfus und Digitaliszubereitungen.)

Von

Walther Straub.

Inhalt.

	Seite
Gesichtspunkte und Methodik	52
Aufarbeitung des Digitalissamens	55
Experimenteller Teil dazu	56
Aufarbeitung des Digitalisblattes	58
a) Über den Kaltextrakt	58
b) Über den Infus	62
Die Gitalinfrage	65
Experimenteller Teil zu Digitalisblatt	68

Gesichtspunkte und Methodik.

Die Ausbeuten an reinen wirksamen Bestandteilen aus Digitalissamen und -blättern bei der Isolierung auf chemischem Wege sind nicht maßgebend für den wahren Gehalt der Droge an Aktivglykosiden. Die Methoden der chemischen Isolierung und Reinigung sind gerade auf diesem Gebiete äußerst verlustreich.

Richtige Werte kann man hier nur erwarten, wenn man Methoden verwendet, die unter Verzicht auf letzte analytische Reinigung trotzdem richtig messen lassen, das sind die physiologischen Meßmethoden, die die feinste analytische Trennung automatisch vom Organismus des Tieres besorgen lassen. Als Hilfsmittel zweiter Ordnung wurde diese Wertbestimmung am Frosch schon manchmal neben

der chemischen Reindarstellung benutzt, so von Windaus¹⁾ bei der Fähdung nach dem wasserlöslichen Blätterglykosid, indessen war damals diese physiologische Messung noch sehr unvollkommen.

Die von mir geplante totale Aufarbeitung muß absolute Werte geben, deshalb sind die meistens gebräuchlichen relativen Zeitmethoden, wie sie zur Wertbestimmung von Galenicis ausgearbeitet sind und dort Genügendes leisten, für meine Zwecke unbrauchbar. Für diese kam nur in Frage die Feststellung der absoluten Dosis letalis minima für das Gramm *Rana Temporaria*. Sie ist als Meßmethode für Galenica schon von Houghton²⁾ erprobt. In einer Nachprüfung dieser Angaben ergab sich mir die volle Zuverlässigkeit des Prinzips. Die Hauptanforderung an die Schärfe ist die, daß ein Tier nur an der Dosis letalis minima unmittelbar und keiner darunter liegenden mittelbar zugrunde geht. Das trifft völlig zu, wenn man die Tiere während der Monate Oktober bis spätestens Mitte Mai verwendet, sie in den Vorratsgefäßen dauernd in fließendem Wasser von Leitungstemperatur hält, in und unter dem sie sich aufhalten³⁾. Die zum Versuch ausgewählten ausschließlich männlichen Tiere werden nach Abpressen des Harns auf Gramm genau gewogen und einzeln unter Glasglocken auf Porzellanteller gesetzt und bleiben dort während der ganzen Beobachtungsdauer. Die Gifteinjektion⁴⁾ erfolgt in den Bauchlymphsack, das injizierte Quantum soll nicht über 0,5 ccm betragen. Unter diesen Bedingungen konnte ich feststellen, daß die Genauigkeit der Messung auf sicher 5–10% Fehler bewertet werden kann. Die eintretende Endreaktion ist den Tieren ohne weiteres anzusehen. Dosen, die eben gerade die »Herzperistaltik« und andere Erscheinungen hervorrufen, die man bei der Beobachtung des gefensternten und mit den übermaximalen Dosen der nach Zeitmethoden bearbeiteten Tieren als präterminale bezeichnet, werden überstanden. Allerdings, bringt man so ein schwer vergiftetes Tier in das Aquarium, also unter Wasser, zurück, so findet man es meistens am anderen Tage tot, erstickt⁵⁾, läßt man es an der Luft, so genügt offen-

1) Windaus, Arch. d. Pharmazie 237, 465.

2) E. M. Houghton, Journ. Americ. Medic. Assoc. 1898.

3) Ich benutze zu diesem Zwecke nach dem Vorbild einer im Züricher pharmakolog. Institut gesehenen Einrichtung gefertigte große Betonaquarien mit 40 cm Wasserhöhe; auf Wasserspiegelhöhe liegen einige Bretter, auf die die Tiere übrigens nur selten klettern.

4) Zur Injektion dient die »Tuberkulinspritze« von Lieberg (Cassel), die bei 1 ccm Gesamtkapazität 0,01 ccm noch hinreichend genau schätzen läßt.

5) Die Vergiftungserscheinungen an Tieren, die die gegebene Dosis eben überstehen, können sich zuweilen über 24 Stunden hinziehen. Sie sind dann von

bar die Hautatmung zur Unterhaltung der Vita minima bis zur Erholung.

Daß alle diese Methoden der physiologischen Messung von einer außerordentlichen Empfindlichkeit sind, ist bekannt. Die Dosis letalis minima absoluta für die Zeit $t = \text{maximum}$, ist z. B. für Digitoxin Merck 0,000 003 65 g pro Gramm Frosch; ich bezeichne in der Folge diesen und analoge Werte als F.D. (Froschdosis) und nenne sie den Titer der fraglichen Substanzen oder Lösungen.

Diese F.D. eines Extraktes, einer bestimmten Fraktion wird nun verglichen mit der F.D. der in der Fraktion enthaltenen reinen Substanz, beim Extrakt der Samen mit dem Titer des Digitalinum verum usw. Ein derartiger Vergleich ist nur statthaft bei der zeitlosen Methode, aber nicht bei den relativen, d. h. Zeitmethoden, bei denen die F.D. der unreinen Lösungen, Extrakte usw., noch mit dem Zeitfaktor der unbekannten aber sicher variablen Resorptionsgeschwindigkeit¹⁾ behaftet sind. Dies ist der springende Punkt der vorliegenden Untersuchungen.

Eine eingehende Kritik der bestehenden Methoden der »physiologischen« Wertbestimmung von Digitalissubstanzen ist hier nicht am Platze²⁾. Sie sind alle bis jetzt nur empirisch ausgearbeitet und leisten das wenige, was von ihnen verlangt wird. Es fehlt zurzeit noch jede Theorie dieser Methoden, schon deshalb weil die Theorie der Digitaliswirkung noch im Anfangsstadium steht. Soweit es sich um Messung an Drogen und Galenicis handelt, war die Unkenntnis des absoluten Gehaltes der Materialien an wirksamen Reinsubstanzen ein Hindernis kritischer Vertiefung. Diese erste Lücke einer künftigen Theorie soll z. T. mit der vorliegenden Arbeit ausgefüllt werden. Ebenso sind auch Spekulationen über die wichtigste Substanz der Droge so lange uferlos, als der absolute Gehalt unbekannt ist.

der Art, wie sie H. Fühner (Pflügers Archiv 129, 1909, 255) an Erstickungsfröschen eingehend beschrieben hat. Die Bedingungen zu solcher Erstickung sind bei der fehlenden Atmung und der vergifteten Zirkulation ja auch in der Digitaliswirkung erfüllt.

1) Vgl. dazu die folgende Abhandlung über die Messung der Resorbierbarkeit von Digitalissubstanzen.

2) Mit dieser Methode des absoluten wirksamen Minimums ist neuerdings in anderem Zusammenhange von H. Walter, Diss., Rostock 1914 (unter Kobert) Literatur! gearbeitet worden. — Vgl. auch C. G. Santesson, Nordiskt Medicinskt Arkiv 1915 und R. Gottlieb, Münch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 15, S. 813, sowie die zahlreichen Untersuchungen von Focke, besonders Ztschr. f. exp. Path. u. Therap. 1913, 14, 302.

Aufarbeitung des Digitalissamens.

Nach den Untersuchungen von Kiliani und seinen Mitarbeitern, enthalten die Digitalissamen als in großer Ausbeute rein darstellbar das Aktivglykosid Digitalinum verum, das krystallisiert noch nicht dargestellte Digitalein und das Saponinglykosid Digitonin; von diesen Substanzen ist Digitalein leicht in Wasser löslich, Digitalinum verum etwas schwerer und Digitonin sehr schwer. In Alkohol sind alle drei Glykoside ziemlich leicht löslich. Es ist von Interesse zu wissen, ob in den Samen auch schon typische Blätterbestandteile enthalten sind. Bei der chemischen Aufarbeitung sind sie nicht zu finden¹⁾, es bleibt aber zu untersuchen, ob sie etwa in so kleinen Mengen in den Samen enthalten sind, daß sie erst mit den physiologischen Meßmethoden zu entdecken wären. Es wurde deshalb jene schonendste Bearbeitung vorgenommen, die Kraft zur Auffindung des »Gitalin« führte, d. h. die Kaltwasserextraktion und Trennung dieser Fraktion durch Ausschüttelung mit Chloroform in einen chloroformlöslichen Anteil, der als Digitoxin bzw. »Gitalin« zu gelten hätte und einen im Rückstand nach der Ausschüttelung bleibenden leicht wasserlöslichen Anteil des Digitalinum verum bzw. Digitalein. Das Digitonin kann physiologisch nicht titriert werden, da es als nicht resorbierbare Substanz unwirksam ist.

Das Resultat der sukzessiven Aufarbeitung ist folgendes:

Fraktion A = erschöpfende Behandlung mit Kaltwasser liefert Aktivglykosid 1,28% des lufttrocknen Ausgangsmaterials.

Von dieser Fraktion enthält die Unterfraktion chloroformlöslicher Anteil: $A_1 = 0,014\%$ des Ausgangsmaterials oder 1,09% der A-Fraktion

und die Unterfraktion wasserlöslicher Anteil nach der Ausschüttelung: $A_2 = 1,262\%$ des Ausgangsmaterials oder 98,91% der A-Fraktion.

Eine zur Kontrolle eingereihte dritte Kaltwasserextraktion liefert nur mehr 0,00363% des Ausgangsmaterials, also eine verschwindende Menge, so daß die Kaltwasserextraktion tatsächlich erschöpfend war.

Endlich wurde noch eine Extraktion mit 96%igem Alkohol durchgeführt, sie lieferte keine meßbare Menge von Aktivglykosid mehr.

1) Insbesondere konnte Kiliani (Arch. d. Pharm. 234, 488) auf chemischem Wege kein Digitoxin nachweisen.

Demnach enthält der Digitalissamen nur in Wasser lösliches Aktivglykosid, das zum allergrößten Anteil in die Unterfraktion A₂ eingeht. Dieses Aktivglykosid kann nach den Untersuchungen von Kiliani und Windaus, nur Digitalinum verum und Digitalein sein. Daß das Glykosid der Fraktion A₁ Digitoxin-»Gitalin« sei, möchte ich nicht behaupten, vielmehr ist es nicht unwahrscheinlich, daß es sich um Spuren der Aktivglykoside der Fraktion A₂ handelte, und zwar um vernachlässigbare; denn nur die sehr empfindliche Messung am ausgeschnittenen Herzen reichte zu ihrer Entdeckung aus. Mit-hin ergibt die Aufarbeitung der Digitalissamen das einfache Resultat, daß diese rund 1,3% einer Mischung von Digitalinum verum und Digitalein enthalten und sonst nichts an Aktivglykosiden. Eine einmalige Ausschüttelung mit dem 70fachen Gewicht kalten Wassers erschöpft die Droge.

Von dem hier analysierten Material, es stammt von einer Züchtung in »reiner Linie«, ist im Versuchsgarten des Instituts ausgesät worden, die wachsenden Pflanzen sollen fortlaufend auf ihren Gehalt an wirksamen Bestandteilen untersucht werden.

Einzelheiten und Analysenbelege im folgenden experimentellen Teil.

Experimenteller Teil.

Digitalissamen.

1. 0,138 g lufttrockener Samen (Nr. 8 einer von der Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Berlin freundlichst zur Verfügung gestellten Auswahl) werden im Achatmörser zerrieben und dann mit Äther entfettet. Sie hinterlassen 0,076 g Rückstand (enthalten also 43% Fett).

Das fettfreie Samenpulver wird mit 10 cem Wasser 3 Stunden lang geschüttelt. Nach Absitzenlassen (Filtration durch Papier wurde in wässriger Lösung in der ganzen Untersuchung unterlassen, da sonst durch Adsorption Verluste entstehen) die Lösung entfernt und mit 15 cem reinstem Chloroform heftig ausgeschüttelt. Der Rückstand (Samenpulver) wird ein zweites Mal ebenso behandelt, die beiden Chloroformauszüge vereinigt, das Chloroform mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und endlich bei 30° auf dem Wasserbad das Chloroform verjagt. Der so erhaltene Rückstand wurde in Wasser in der Kälte gelöst. Nachdem 1 cem dieser Lösung an einem kleinen Grasfrosch sich ganz unwirksam erwies, wurde die Titration am ausgeschnittenen Eskulentenherzen in der Straubsehen Anordnung vorgenommen.

Hier ergab sich, daß insgesamt etwa 10mal soviel wirksame Substanz in der Lösung enthalten ist, als der noch sicher meßbaren Menge von Digitalinum verum gleichkommt. Diese ist 0,000 002 g in 1 ccm, es enthielt also diese

Fraktion A₁ etwa 0,000 02 g Substanz, vermutlich Digitalinum verum bzw. Digitalein.

2. Die beiden wässerigen Rückstände nach der Chloroformextraktion werden vereinigt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Der Trockenrückstand in 5,0 ccm Wasser gelöst.

An kleinen Temporarien beträgt für diese Lösung der Titer 0,0175 g pro Gramm Frosch, in den 5 ccm sind also enthalten 285,5 F.D.

Der Titer des reinen Digitalinum verum (Präparat von Prof. Kiliani) ist 0,000 006 1 g pro Gramm Frosch, also ist die ermittelte Gesamtmenge von 285,5 F.D. äquivalent 0,0017 g Digitalinum verum.

Im verarbeiteten Ausgangsmaterial lufttrocken und fetthaltig berechnet, sind demnach enthalten 1,26% Aktivglykosid.

Dabei ist der Berechnung nur der Titer von Digitalinum verum zugrunde gelegt, da derjenige von Digitalein nicht bekannt ist. Nach den Schätzungen von Windaus ist aber anzunehmen, daß der Digitaleintiter nicht wesentlich verschieden ist von dem des Digitalinum verum.

3. Das so mit Wasser zweimal extrahierte Samenpulver wurde ein drittes Mal mit Wasser extrahiert, um über den Erschöpfungsgrad der beiden ersten Extraktionen zu orientieren. Diese Nachextraktion lieferte nur mehr 0,000 005 g Aktivglykosid, d. h. die zweimalige Wasserbehandlung war praktisch erschöpfend.

4. Endlich wurde das so dreimal mit Wasser extrahiert gewesene Samenpulver noch mit 10,0 ccm Alkohol von 96% behandelt; der Rückstand dieses Extraktes in 1 ccm Wasser gelöst, war am ganzen Frosch unwirksam. Die Behandlungen 1. bis 3. haben also die Samen erschöpft.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß in dieser Fraktion noch kleinste Mengen Aktivglykosid enthalten waren, die am ausgeschnittenen Froschherzen entdeckt werden können, die Messung mit diesem ist hier aber unstatthaft, da es auch auf das in dieser Fraktion im Maximum enthaltene Digitonin reagiert, hier aber nur auf Aktivglykosid untersucht wurde.

Aufarbeitung des Digitalisblattes.

Während die Ermittlung des Gesamtwertes der Samen verhältnismäßig einfach ist, liegen die Verhältnisse ungleich schwieriger beim Blatt, sind aber andererseits auch ungleich wichtiger. Die Schwierigkeit liegt in der Vielartigkeit und der Labilität der wirksamen Substanzen. So mußten die verschiedenen Substanzen in entsprechende Fraktionen eingeteilt und die labilsten vorweggenommen werden.

Der Versuch einer chemischen Aufarbeitung des Blattes ist in letzter Zeit meines Wissens systematisch nur von Kraft¹⁾ unternommen worden. Kraft lieferte dabei den für meine Untersuchung wichtigen Nachweis, daß ein sehr labiler Anteil der gesamten wirksamen Substanzen nur bei Extraktion mit kaltem Wasser zu gewinnen ist, ein Anteil aus dem er durch weitere Reinigung über die Chloroformausschüttelung eine von ihm »Gitalin« genannte amorphe Substanz gefunden haben will.

Nach Kilianis Kritik der Untersuchungen Krafts ist das »Gitalin« kein einheitlicher Körper; wie nun die Frage nach der Natur des stets gesuchten, leicht in Wasser löslichen Blätterbestandteiles dereinst entschieden werden mag, so ist doch so viel an den Kraftschen Untersuchungen geblieben, daß man durch Extraktion mit kaltem Wasser eine Fraktion gewinnt, die stark wirksame und wahrscheinlich auch sehr labile Bestandteile enthält und daß allein schon durch stärkeres Erwärmen ein in der Fraktion enthaltener Bestandteil unwirksam als fester Niederschlag ausfällt. In wirksamer unveränderter Form läßt sich dem Kaltwasserextrakt der labilste Bestandteil durch Ausschütteln mit Chloroform entziehen.

Demnach mußte die erste Etappe der Verarbeitung die Kaltextraktion mit Wasser sein. Ich habe mich zunächst an die Kraftsche Arbeitsweise gehalten. Die Fraktion wird außer dem labilen Aktivkörper »Gitalin« und dem Digitalein²⁾ noch wasserlösliche Saponine enthalten und vielleicht auch einen Teil des Digitoxins, denn dieses ist nicht so wasserunlöslich³⁾, daß es nicht in den großen Überschuß des Lösungsmittels mit einginge, wenn auch zu erwarten ist, daß der größere Anteil dieses Reinkörpers in der Alkoholfraktion enthalten sein wird. Die mit Kaltwasser behandelten Blätter wurden nunmehr mit 50%igem Alkohol bei etwa 40° über Nacht

1) F. Kraft, Die Glykoside der Blätter von *Digitalis purpurea*. Archiv d. Pharmazie 250, 1912, 118.

2) Windaus, Arch. d. Pharmazie 237, 465.

3) Vgl. dazu besonders E. Oppenheimer, Biochem. Zeitschr. 55, 1913, 135.

stehen gelassen. Wie sich gezeigt hat (s. u.), ist die Extraktion mit der 25fachen Gewichtsmenge Kaltwasser erschöpfend, es ist also zu erwarten, daß in die Fraktion 50%iger Alkohol nur Alkohollösliches eingehen wird. Der Alkohol wurde nur 50%ig genommen, um die Verunreinigung des Extraktes durch Chlorophyll und »Fett« möglichst zu vermeiden. Zur Titrierung wurde in dieser Fraktion der Alkohol auf dem Wasserbad bei 40° verjagt und der Rückstand in wenig destilliertem Wasser aufgenommen. Auch mit 50%igem Alkohol ist die einmalige Extraktion praktisch erschöpfend. Es wurde endlich noch eine Fraktion durch Extraktion mit 96%igem Alkohol angesetzt, sie enthielt das Chlorophyll, war aber selbst am ausgeschnittenen Herzen¹⁾ unwirksam.

Damit war das Digitalisblatt in möglichst schonender Weise aufgearbeitet.

Das quantitative Ergebnis ist in der folgenden Tabelle verzeichnet:

A. 100 ccm 4%iger Kaltwasserextrakt	= 5550 F.D.
B. Der Blätterrückstand mit 100 ccm 50%igem Alkohol bei 50° digeriert	= 2590 »
C. Dasselbe abermals mit 100 ccm 50%igem Alkohol bei 50° digeriert	= — »
D. Endlich mit 96%igem Alkohol extrahiert	= — »

Es sind also in den Folia enthalten rund 8000 F.D. in 4,0 g oder in 100 g Folia lufttrocken = 200 000 F.D. Der mittlere Titer, der in Frage kommenden Reinsubstanzen ist 0,000 004 80 g pro Gramm Frosch, d. h. 100 g Blätter enthalten 0,96 g Reinglykosid oder rund 1%. Es kann sich bei dieser Messung nur um Aktivglykoside handeln, da die Saponine bei subkutaner Injektion unwirksam sind, also keinesfalls mitgemessen werden.

1) Die Prüfung am ausgeschnittenen Herzen wurde in dieser Untersuchung nur als Notbehelf herangezogen, wenn die Extrakte so wenig Wirksames mehr enthielten, daß die Messung am ganzen Frosch versagte. Die Prüfung am isolierten Herzen ist zwar viel empfindlicher, aber zurzeit noch nicht genügend scharf für genaue Messung, sie diente deshalb mehr der qualitativen Prüfung. Über den Empfindlichkeitsunterschied gibt folgender Überschlagn Aufschluß. Die Dos. let. für $t = \max$ von Digitoxin ist 0,000 003 65 pro Gramm Temporaria. Die kleinsten benutzbaren Tiere wiegen 15 g, die unterste meßbare Menge Digitoxin ist also hier 0,000 055 g. Die niedrigste Konzentration, die am ausgeschnittenen Herzen noch sicher Tonuswirkung macht, ist 1:2 · 10⁶, in dem verwandten 1 ccm also 0,000 000 5 g, d. h. letztere Prüfung ist etwa 100fach empfindlicher.

Tabelle 1.

In 100 g lufttrockener Folia titrata	F.D.	Äquivalente Gramm Aktivglykosid	
Kaltwasserfraktion . .	138 750	0,66	Gitalin + Digitalein
Alkoholfraktion . . .	64 750	0,24	Digitoxin
Zusammen	203 500	0,90	

Die erste Kaltwasserextraktion ist erschöpfend, denn eine zweite Kaltwasserextraktion derselben Blätter, die von den Resten der ersten Wasserbehandlung durch Abpressen zwischen Filtrierpapier getrennt wurde, lieferte nur so wenig Aktivglykosid, daß das erhaltene ohne Zwang auf das noch vorhandene flüssige Porenvolum, also Rückstand von der ersten Fraktion bezogen werden kann. Somit liefern die beiden Extraktionsformen, Kaltwasser und 50% Alkohol, eine völlige Erschöpfung des Blattes an wirksamen Anteilen des Ganzen in zwei scharf zu trennenden Fraktionen.

Weitere Trennung der Fraktionen und Deutung der Resultate.

Die Fraktion A Kaltwassererschöpfung kann nur enthalten das seinerzeit von Windaus und Kiliani¹⁾ gefundene leicht in Wasser lösliche Digitalein und das ebenfalls in Wasser lösliche »Gitalin« Krafts, dazu noch Anteile der schwer in Wasser löslichen Bestandteile, also des Digitoxins nach Maßgabe seiner geringen eventuell durch andere Extraktivbestandteile begünstigten Löslichkeit²⁾. Eine Trennung ist hier dadurch möglich, daß das »Gitalin« und das Digitoxin in Chloroform löslich ist, dem Kaltwasserextrakt also durch Ausschütteln mit diesem entzogen werden kann, während das Digitalein in Chloroform unlöslich im wässerigen Rückstand verbleiben muß³⁾.

Die auf diesem Wege durchgeführte Trennung der A-Fraktion ergab folgende Werte:

- a) 100 ccm Kaltextrakt aus 4 g Folia titrata . = 5550 F.D.
 In die Chloroformausschüttelung gehen ein . . = 2560 »
 Im wässerigen Rückstand verbleiben auffindbar = 2300 »
 Unauffindbar bleibt ein Defizit von 5550—4860 = 690 »

1) l. c.

2) Kiliani, Arch. d. Pharmazie 251, 1913, 584.

3) »Entwurf einer Digitalisanalyse.« Kiliani, Ebenda S. 565. Ein ähnlicher Gedankengang ist neuerdings ausgesprochen bei Santesson l. c. S. 4.

Das Defizit ist über Fehlerquelle. Es ergab also die Trennung:

46 % chloroformlösliches, ich nenne es »Gitalin».

42 » wasserlösliches, also Digitalein.

12 » Defizit.

Über die Natur des Defizits weiß ich keine sichere Erklärung auf Grund von eigener Erfahrung. Kiliani und Windaus weisen aber darauf hin, daß das Digitalein ein äußerst labiles Lakton ist, das beim Übergang in die Säure unwirksam wird. Es ist möglich, daß eine zur Säureumwandlung nötige Wasseraufnahme während der Trennung stattfindet, daß also die wirkliche Trennung der Fraktion 46 % Gitalin und 54 % Digitalein ergäbe.

Der Titer des »Gitalins«¹⁾ ist 0,00000585 g pro Gramm Frosch. Die ganze Unterfraktion enthielt 2560 F.D. = 0,00150 g in den 4 g Ausgangsmaterial oder 0,375 g in 100 g Folia²⁾.

b) Die Alkoholfraktion ist ganz als Digitoxinfraktion zu betrachten, einmal sind andere Glykoside, die in ihr enthalten sein könnten, nicht bekannt, dann ist die vorhergehende Behandlung mit Kaltwasser eine erschöpfende, wie oben gezeigt wurde. Demnach sind die gefundenen 2590 F.D. nach dem Digitoxintiter (= 0,00000356 g pro Gramm Frosch) insgesamt = 0,0092 g oder in 100 g Folia = 0,23 g, ein Wert, der vermutlich etwas zu klein ist, da ein kleiner Anteil Digitoxin in der Kaltwasserfraktion enthalten sein mag.

Vergleicht man mit diesen Bestimmungen die Ausbeuten, die von Windaus und Kiliani und besonders von Kraft bei der Reindarstellung der Glykoside erhalten worden sind, so zeigen sich die großen Verluste beim chemischen Verfahren.

	Es bekam bei Reindarstellung	Es sind enthalten nach Titration
Gitalin (Kraft) .	0,07 %	0,375 %
Digitoxin (Kraft)	0,015 »	0,230 »

Wie ersichtlich bewegen sich die Ausbeuten bei der chemischen Reindarstellung zwischen 20 und 7 % der tatsächlich in den Blättern enthaltenen Mengen.

1) Bezogen auf jene mir zur Verfügung stehende »Gitalin«probe, die Kiliani (Arch. d. Pharm. 252, 14) mit Nr. VII bezeichnete.

2) Diese Zahlen gelten nur für die nach Kraft durchgeführte Zerlegung des Kaltwasserextraktes durch Chloroformausschüttelung. Geht man auf größte Ausbeute an Gitalin aus, so lieferte mir ein verbessertes Verfahren etwa 25 % höhere Werte, ohne daß dabei das Defizit in der Unterfraktion »Digitalein« verschwunden wäre.

Ich habe oben als möglich hingestellt, daß in der Gitalinfraktion etwas Digitoxin enthalten sein könnte. Die Voraussetzung dieser Möglichkeit ist lediglich das gemeinsame Lösungsmittel Chloroform. Die endlichen wässerigen Lösungen der Extrakte der Gitalinfraktion erwiesen sich — auf Reinsubstanz berechnet — so konzentriert, daß auch ein Drittel der tötlichen Dosis für einen mittleren Frosch in dieser Fraktion nicht Digitoxin sein konnte. Es hätte um so eher ausfallen müssen (vgl. Oppenheimer l. c.), als diese wässerigen Endlösungen wasserklar waren und schon von der Fraktionierung her keinen der Bestandteile mehr enthalten konnten, die man als die Löslichkeitsvermittler des Digitoxins anzusprechen gewohnt ist. Ich neige deshalb sehr zu der Meinung, daß die Gitalinfraktion höchstens Spuren von Digitoxin enthalten kann, die praktisch ohne Bedeutung sind. Daraus folgt aber weiter, daß in der ganzen Kaltwasserfraktion kaum Digitoxin enthalten sein kann.

Aufarbeitung des lege artis hergestellten Infusum.

Die von Kaltwasserextrakt ausgehende Aufarbeitung berücksichtigt die Behauptung Krafts, daß nur mit diesem alle wasserlöslichen Glykoside erhalten werden; bei Behandlung mit Temperaturen über 30° in wässriger Lösung zersetzen diese sich teilweise unter Ausscheidung eines unlöslichen Niederschlages, im Infus können also alle Aktivglykoside nicht mehr enthalten sein. Ob diese von Kraft nur aus dem chemischen Darstellungsverfahren und den Eigenschaften des Reinproduktes gefolgerte Annahme zutrifft, kann erst durch die vergleichsweise Aufarbeitung auch des Infuses kontrolliert werden.

Es ergaben sich mir bei der der vorigen ganz analogen sukzessiven Aufarbeitung des Infuses in unmittelbarer Vergleichbarkeit mit den Kaltwasserextraktionswerten folgende Zahlen:

Infus von 4 g Folia titrata mit 100,0 Wasser.

A ₁ im unveränderten Infus enthalten . . .	4680 F.D. (gegen 5500 F.D.) bei Kaltwasser,
B ₁ nach folgender Behandlung der Blätter mit 50 % Alkohol .	2220 » » 2440 » » »
C ₁ nach abermaliger Alkoholbehandlung .	— » » — » » »
Insgesamt Aktivdosen .	6900 F.D. (gegen 7950 F.D.) bei Kaltwasser,

oder auf 100 g trockne Folia titrata gerechnet:

Tabelle 2.

In 100 g Folia	F.D.	Gramm äquivalenter Aktivglykosid
Infus	117 000	0,556
Alkoholanteil	44 400	0,215

Also ein tatsächliches Defizit von rund 1000 F.D. Da die Fraktionen B und B₁ bis auf Fehlergrenze übereinstimmen, ist das Defizit, wie auch die Titrierung ergab, lediglich in der Wasserfraktion zustande gekommen, mithin die Kraftsche Annahme gerechtfertigt. Man kann nun als erwiesen annehmen, daß bei der Infundierung der Folia nach der Vorschrift der Pharmakopoe ein beträchtlicher Teil wirksamen wasserlöslichen Aktivglykosides zugrunde geht.

Die Trennung der Heißwasserfraktion nach dem oben beim Kaltwasserextrakt beschriebenen Verfahren ergab:

100 ccm Heißwasserfraktion enthalten	4680 F.D. gegen	5550 F.D.
Durch Chloroformbehandlung werden da-		
von getrennt.	2920 » »	2560 »
Im wässerigen Rückstand gefunden. .	1830 » »	2300 »
Insgesamt in den Teilfraktionen . . .	4750 F.D. gegen	4860 F.D.

Es sind also die Mengen der Aktivglykoside in der »Gitalin«-fraktion vermehrt, in der Digitaleinfraktion vermindert gefunden worden, und zwar um Werte, die außerhalb der Fehlergrenzen liegen. Ein Defizit der Summen der beiden Unterfraktionen war hier nicht zu bemerken.

Zur Deutung des Resultates sind die einzelnen Posten der Unterfraktionen und die vorherige und nachfolgende Fraktion zu berücksichtigen. Danach kann man annehmen, daß das Plus in der Unterfraktion »Chloroform« das Digitoxin ist, denn die Nachfraktion »Alkohol« ist kleiner als im Kaltwasserextrakt. Auch die Übereinstimmung der Bilanz der Unterfraktionen spricht dafür, denn es ist nicht anzunehmen, daß das zersetzliche Digitalein (Unterfraktion: wässriger Rückstand) bei der Heißwasserbehandlung beständiger sein sollte als in der Kaltwasserbehandlung. Zudem ist absolut diese Unterfraktion kleiner als die analoge der Kaltwasserbehandlung. Ich bin also der Meinung, daß die Differenz in den Unterfraktionen der Infusbehandlung durch den vermehrten Gehalt des Infuses an Digitoxin veranlaßt ist. Diese An-

nahme bekommt noch Vorschub durch die Beobachtung, daß die Unterfraktion »Chloroform« viel mehr sichtbare gefärbte Extraktivstoffe enthält als die analoge bei der Kaltwasserbehandlung.

Rückwirkend würde man dann annehmen können, daß die Differenz von 1000 F.D. bei den Ausgangsfraktionen (Heiß- bzw. Kaltwasser) eine qualitativ noch größere ist als quantitativ meßbar, da sie teilweise durch das im Wasserextrakt sonst seltene Digitoxin innerlich gedeckt ist.

Im Sinne des Eingehens von Digitoxin in den Infus ist auch folgende Modifikation der Blätteraufarbeitung zu verwerten.

4,0 g Folia 9 Stunden geschüttelt geben an Kaltwasser	5880 F.D. ¹⁾
Dieselben danach lege artis infundiert	1242 »
Dieselben nach Infusion mit 50% Alkohol extrahiert .	1420 »
<hr/>	
Zusammen 8442 F.D.	

Nach oben S. 59 geben kalt extrahiert gewesene Blätter an 50%igen Alkohol noch ab 2440 F.D. und sind dann praktisch erschöpft, schaltet man aber zwischen Kaltextraktion und Alkoholbehandlung noch eine Infusion, so geht in diese wie gezeigt etwas aus der Alkoholfraktion ein. Da andererseits die Kaltwasserextraktion für sich erschöpfend ist, denn wie oben gezeigt, ist eine zweite Kaltextraktion nach der ersten fast ergebnislos, kann mit größter Wahrscheinlichkeit das bei der Infusion nach Kaltextraktion gefundene große Quantum wirksamer Substanz nur Digitoxin sein.

Es bleibt zu erklären, warum bei der alleinigen Infundierung aus dem alkohollöslichen Teil weniger entnommen wird, als wenn eine Kaltwasserbehandlung vorhergegangen ist. Wahrscheinlich spielt hier die geringe Wasserlöslichkeit des Digitoxins, also rasche Sättigung der Lösung, die entscheidende Rolle, doch soll die Frage mangels Versuche offen bleiben.

Hinsichtlich der Kritik des Infuses ergibt sich aus den Titrierungen, daß das Digitoxin jedenfalls in nur geringem Maße in ihm die Rolle eines wirksamen Bestandteiles spielen kann, eine Frage, die bisher nicht lösbar war²⁾.

1) Material einer anderen Sendung von geringerem Wassergehalt.

2) Doch scheinen viele Autoren zu der Auffassung zu neigen, daß das Digitoxin »der« wichtigste, weil der wirksamste Blätterbestandteil ist, eine Meinung, die man jetzt nicht mehr gut aufrecht erhalten können.

Die Gitalinfrage.

Nach den bisherigen Feststellungen können im wesentlichen nur wasserlösliche Glykoside der Blätter die Träger der therapeutischen Wirkung der wässerigen Zubereitungen sein. Das von Kraft durch sein Kaltwasserverfahren isolierte »Gitalin« hat sich in den Händen Kilianis als ein Gemenge herausgestellt und ist dadurch in Mißkredit gekommen; diese rein chemische Frage nach der Natur des Gitalins ist aber für die Pharmakologie und die Therapie von untergeordneter Bedeutung, denn hier handelt es sich darum, ob durch das Kaltwasserverfahren etwas Neues und Besonderes aus der Pflanze gewonnen werden kann. Diese pharmakologische Gitalinfrage ist hier zu untersuchen.

Wie in den mitgeteilten Versuchen wurde durch 6stündiges Schütteln von 4,0 g Folia titrata mit 100,0 g Wasser ein Kaltextrakt hergestellt, der den Titer = 5550 F.D.¹⁾ für das ganze Quantum aufwies; nachdem der Extrakt ausgewertet war, wurde er auf dem siedenden Wasserbad 10 Minuten lang erwärmt und dann erkalten gelassen, beim Erkalten trübte sich die Lösung, nach dem Absetzen der Trübung wurde der überstehende Anteil ausgewertet und ergab = 4130 F.D., also trat durch die Erwärmung ein Titersturz von 5550 auf 4130 F.D. um 1420 F.D. oder um 25,0% ein, der Kaltextrakt verliert also durch einfache Erwärmung ein Viertel seiner wirksamen Bestandteile. Dieser Titersturz ist ein einmaliger, denn als derselbe Extrakt nach 24 Stunden ein zweites Mal erwärmt wurde, trübte er sich nicht mehr und sein Titer war noch 4060 F.D., also praktisch unverändert. Der Titersturz hat also nichts zu tun mit dem bekannten Verderben der Infuse beim Altern.

Die Erscheinung des Titersturzes ist also ganz konform mit den Beobachtungen an Kaltextrakt und Infus als Ausgangsmaterial der Aufarbeitung. Es ist die Titerdifferenz

Kaltextrakt-Infus. = 5550 — 4680 = 870 F.D.
 Kaltextrakt und erhitzter Kaltextrakt = 5550 — 4130 = 1420 »

Daß der Titersturz größer ist als die Differenz Kaltextrakt-Infus ist selbstverständlich, denn wie oben gezeigt, stellt der Infus ein Gemenge dar, das innerlich anders zusammengesetzt ist als der Kaltextrakt.

1) Die Differenz von 50 F.D. gegen den Wert der früheren Kaltextrakte ist belanglos.

Wenn der beobachtete Titersturz auf das Unwirksamwerden der Gitalinanteile zurückgehen soll, so muß eine reine »Gitalin«-Lösung ebenfalls den Titersturz zeigen. Das ist der Fall, denn eine »Gitalin«-Lösung 1/1000 mit dem Titer 0,000 005 85 g pro Gramm *Temporaria*¹⁾ hatte nach 30 Minuten langem Erwärmen auf dem Wasserbad und Absetzenlassen des entstandenen Niederschlages²⁾ nur mehr den Titer 0,000 013 8 g, also nur mehr 43% des vorherigen, auch dieser Titer wird durch eine zweite Erwärmung nicht tiefer gedrückt.

Es ergibt sich also für das »Gitalin«, daß die durch das Erwärmen ausgefällte Substanz vorher wirksam war, daß sie aber nicht die einzige wirksame des Gemenges ist, denn der Rückstand hat noch 43% der vorigen Wirksamkeit.

Daneben gibt auch diese Titrierung Hinweis auf die Gemengenatur des Gitalins. Daß eine einheitliche Substanz durch eine teilweise Verwandlung in den unlöslichen Niederschlag sich zerlegt hätte, kann nicht angenommen werden, weil die Reaktion keine Gleichgewichtsreaktion ist, andernfalls hätte ja die zweite Erwärmung nach Abtrennung der ausgefallenen Substanz eine abermalige Titerverminderung ergeben müssen, was nicht der Fall war.

Die wässrige Lösung des Rückstandes der Chloroformausschüttelung des Kaltwasserextraktes enthält nach früheren Darlegungen »Gitalin« und vielleicht kleinere Mengen Digitoxin, sie muß also ihrem Gitalingehalt zufolge ebenfalls die Erscheinung des Titersturzes bei der Erwärmung zeigen. Die erschöpfende Chloroformausschüttelung eines 4%igen Kaltextraktes lieferte auf die ganze Fraktion berechnet 3330 F.D. Die wässrige Lösung des Rückstandes der Chloroformausschüttelung wurde nun auf dem Wasserbad 30 Minuten lang erwärmt und absitzen lassen. Das Filtrat hatte nur mehr 1212 F.D. wirksamen Inhalt, also etwa $\frac{1}{3}$ des Titors den die nicht erwärmte Lösung hatte. Die Aktivglykoside der Chloroformausschüttelung erleiden also bei der Erwärmung denselben Titersturz — sogar annähernd quantitativ — der für das reine Gitalin und für den Kaltextrakt der Blätter bei der gleichen Behandlung ermittelt worden war.

1) Zur Verwendung kam das oben erwähnte »Gitalin«-Präparat der Firma C. F. Boehringer, das auch von Kiliani untersucht wurde und in dessen Arbeit (*Arch. d. Pharmazie* 252, 1914, 14) mit Nr. 7 bezeichnet ist.

2) Kraft hat diesen Niederschlag für reines Anhydrogitalin gehalten; aus Kilianis Untersuchung (*Arch. d. Pharmazie* 252, 13) ergibt sich aber, daß derselbe wiederum ein Gemenge von verschiedenen Substanzen, z. T. jedenfalls Zersetzungsprodukten, ist. Bei dieser Kompliziertheit entzieht sich die Natur des aus dem erhitzten Kaltextrakt ausfallenden Teils hier jeder Kritik.

(Hier wird nun auch die Frage greifbarer, ob in der Gitalinfraktion Digitoxin enthalten ist. Wie besondere Versuche zeigten, wird der Titer einer Digitoxinlösung durch Erwärmen in keiner Weise verändert. Der Titersturz der Gitalinfraktion aus Blättern ist etwa von derselben Größenordnung wie der der isolierten »Gitalin-substanz«, in der kein Digitoxin enthalten ist, also kann auch die ganze Kaltwasserfraktion in ihrem chloroformlöslichen Anteil nicht viel anders zusammengesetzt sein wie das reine Gitalin.)

Endlich ist zu erwarten, daß die Titerwerte der Chloroformausschüttelungen eines unveränderten und eines erwärmt gewesenen Kaltwasserextraktes verschieden sein werden. Das ist tatsächlich der Fall.

In einem in dieser Richtung ausgeführten Versuch ergab sich folgendes:

4,0 Folia geben an Kaltextrakt.	= 5500 F.D.
Dessen Chloroformausschüttelung	= 3300 »
Der Kaltextrakt hat nach Erwärmen den Titer	= 4166 »
Die Chloroformausschüttelung des erwärmten Kaltextrakt	= 2600 »

Nach Kraft ist das »Gitalin« aber nicht nur in der wässerigen Lösung wärmeempfindlich, sondern auch in der Kälte empfindlich gegen sonst indifferente organische Lösungsmittel wie Alkohol. Auch die Prüfung dieser Behauptung vom Wirksamkeitsstandpunkt ist wichtig, da bekanntlich sehr viele Galenika des Handels über Alkohol fabriziert werden.

Von einem Kaltextrakt im Werte von 5880 F.D. wurden eine Verdünnung mit dem gleichen Volum 96 %igem Alkohol hergestellt und 24 Stunden stehen gelassen, dadurch sank der Titerwert auf 3700 F.D., also um etwa 35 %, d. h. er erlitt einen Sturz von etwa der gleichen Größenordnung wie der Kaltextrakt bei der Erwärmung. Derselbe Titersturz trat auch in Erscheinung, wenn der Kaltextrakt im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und der Rückstand mit Alkohol im Volumen des verschwundenen Wassers aufgenommen wurde, d. h. Alkohol in konzentrierterer Form auf die Aktivglykoside einwirkt.

Somit muß man auch für die über Alkohol dargestellten Digitalisblätterpräparate annehmen, daß sie gewisse Anteile der wirksamen Substanzen des Blattes nicht mehr enthalten.

Für die pharmokologische Gitalinfrage ist meines Erachtens sichergestellt, daß das »Gitalin« ein selbständiger von den andern Glykosiden unterscheidbarer Bestandteil des Blattes ist und für die

therapeutische Praxis, daß mindestens der durch die Erwärmung ausfallende Anteil des »Gitalins« also etwa die Hälfte dem Infus fehlt.

Ergebnisse dieser Untersuchung.

A. Digitalissamen.

1. Digitalissamen enthalten etwa 1,3% wirksamer Glykoside.
2. Diese Glykoside sind wasserlöslich, also Digitalinum verum und Digitalein.
3. Digitoxin und »Gitalin« ist in dem Samen nicht enthalten.

B. Digitalisblätter (Folia titrata).

1. Trockne Digitalisblätter enthalten insgesamt rund 1% wirksame Glykoside.
2. Diese bestehen zu zwei Drittel aus den wasserlöslichen Glykosiden bzw. Glykosidgemengen »Gitalin« und Digitalein und nur zu einem Drittel aus Digitoxin.
3. Im Infusum foliorum Digitalis ist absolut weniger wirksame Substanz und relativ mehr Digitoxin enthalten als im Kaltwasserextrakt.
4. Das Infusum enthält insbesondere weniger an dem wirksamen Glykosidgemenge »Gitalin«.
5. Das »Gitalin« kann auch in über Alkohol dargestellten Zubereitungen nicht vollständig enthalten sein.
6. Das Digitoxin ist nur in geringer Menge im Infus enthalten.

Experimenteller Teil zu Folia Digitalis.

A. Kaltwasserextrakt. 4,0 g Folia titrata von Cäsar und Loretz Ernte 1915 werden in der Maschine 6 Stunden lang mit 100 g Wasser geschüttelt. Das Filtrat wird zunächst unverändert auf seinen Titerwert für t_{\max} geprüft, d. h. die überhaupt noch wirksame tödliche Minimaldosis ermittelt.

Sie beträgt,

da Temporaria 1 mit 0,016 cem Extrakt pro Gramm Tier überlebt

» 2 » 0,020 » » » » » stirbt

0,018 g Extrakt pro Gramm Frosch

(oder im ganzen Extrakt sind enthalten $100/0,18 = 5550$ F.D. (tödliche Minimaldosen).

B. Extrakt mit 50% Alkohol. Der Blätterrückstand von A. wird zwischen Filtrierpapier auf Tonteller abgepreßt und über Nacht bei

etwa 40° mit 50% Alkohol extrahiert. Vom Filtrat werden 10,0 ccm bei gelinder Wärme getrocknet, der Rückstand in 4 ccm Wasser aufgenommen und der Titerwert dieser 4 ccm bestimmt

0,0164 ccm pro Gramm Frosch töten,

0,0124 „ „ „ „ werden überlebt.

Das Mittel 0,0144 ist nicht tödlich,

deshalb Titer $\left(\frac{0,0164 + 0,0144}{2} \right) = 0,0154$ ccm Extrakt per Gramm Frosch, in 4 ccm eingeeengtem Extrakt also 259 F.D.; ebensoviel in 10,0 ccm unveränderter Alkoholextraktion in der ganzen Alkoholfraktion, also 2590 F.D.

Trennung der Unterfraktionen, Chloroform- und Wasseranteil.

Zur Verarbeitung auf Gitalin werden 50,0 ccm des Kaltextraktes im Vakuum über Schwefelsäure in wenigen Stunden auf 16,4 ccm eingeeengt und mit je 31 ccm reinsten Chloroform dreimal ausgeschüttelt. Zur Vermeidung von stärkerer Emulsionsbildung geschieht die Ausschüttelung unter Fernhaltung jeglicher, auch der kleinsten Luftblase. Die vereinigten Ausschüttelungen werden mit wasserfreier Soda neutralisiert und mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, alsdann aus einem Rundkolben im Wasserbad von nicht über 30° am Vakuum das Chloroform rasch abgetrieben. In demselben Kolben wird der verbleibende Trockenrückstand, der dem Gewicht nach im wesentlichen aus »Fett« besteht, mit einigen Tropfen Chloroform wieder gelöst und nunmehr 3 ccm Wasser zugegeben, es entsteht eine sehr feine Emulsion, die nach mehrmaligem Durchschütteln über Nacht stehen bleibt, im lose verschlossenen Gefäß verdampft dabei Chloroform und es bleibt die wässrige Lösung des »Gitalin« übrig.

Der Titerwert dieser Lösung ist

da Frosch 1 mit 0,0108 ccm überlebt

„ 2 „ 0,0127 „ stirbt

0,0117 ccm der Lösung pro Gramm Frosch.

Es enthielten also die 3 ccm Lösung $\frac{3}{0,017}$ oder 256 F.D., der Wert der gesamten Fraktion = 2580 F.D.

Die dreimalige Ausschüttelung war ausreichend, denn eine getrennt behandelte vierte Ausschüttelung lieferte in 2 ccm endlichen wässerigen Anteil nicht ganz 1 F.D., ist also zu vernachlässigen.

Digitalein.

Die nach der Chloroformausschüttelung zurückbleibende wässrige Lösung lieferte bei ihrer unmittelbaren Prüfung am Frosch einen unklaren Titerwert. Die Tiere standen offenbar unter einer Kombinationswirkung von Digitalisglykosid und Kalisalzen, denn am scheinbar toten Tier war der Ventrikel nicht maximal tonisch, beim Ausschneiden konnte er an einer Kanüle nach einmaligem Auswaschen mit Ringerlösung wieder zum Schlagen gebracht werden.

Wurden diese Lösungen am ausgeschnittenen Herzen geprüft, so trat bei überhaupt wirksamen Mengen eine sofortige Lähmung in Diastole ein, die durch Wechseln des Inhalts gegen Ringerlösung momentan behoben werden konnte, dieselbe Erscheinung tritt ein bei Verwendung einer äquivalenten Lösung der Asche der Digitalisblätter, ist also Salz(Kali)wirkung.

Die Entfernung der Kalisalze geschah deshalb über Alkohol. Der wässrige Anteil wurde bis zur Sirupdicke im Vakuum eingengt und mit Alkohol von 96% im Volumen des verjagten Wassers ersetzt. Es entsteht sofort ein Niederschlag, der nach Filtration dreimal mit Alkohol gewaschen wurde. Alle Alkoholanteile werden vereinigt zum Trocknen gebracht und der Rückstand in der geeigneten Menge Wasser gelöst. Diese Lösung reagiert deutlich sauer, sie wird beim Neutralisieren mit Soda intensiv gelb. Der Titer ist in reiner wie in neutraler Lösung der gleiche. Möglicherweise rührt die Säuerung von der Laktonaufspaltung am Digitalein her.

Bei dieser Verarbeitung wurden dann noch 2260 F.D. gefunden.

Es läßt sich auch bei Fernhaltung stärkerer Emulsionsbildung beim Ausschütteln mit Chloroform nicht vermeiden, daß sich zwischen den Lösungsmitteln eine trübe Zwischenschicht bildet, die nach Kraft hauptsächlich die Saponine enthalten soll. In dieser Schicht kann »Gitalin« und Digitalein adsorbiert sein. Um so mögliche Verluste zu vermeiden, wurde die Verarbeitung in einer Weise modifiziert, die die Bildung dieser Zwischenschicht vermeidet.

Dabei ergab sich:

50,0 ccm Kaltextrakt von Folia titrata $4,0/100,0$ geben an Chloroform einen Anteil ab, der in 10 ccm Wasser gelöst den Titer 0,0059 ccm pro Gramm Frosch besitzt,

also in 10 ccm = 1694; ebenso wie in 50 ccm Kaltextrakt und in 4,0 g Folia = 3368 F.D.

Der Alkoholextrakt des im wesentlichen aus Natriumsulfat bestehenden chloroformunlöslichen Anteils wird in 5 cem Wasser aufgenommen. Diese Lösung hat den Titer 0,0053 cem pro Gramm Frosch;

also in 5 cem = 943 F.D. und in der ganzen Fraktion 1886 F.D.

Somit verteilt sich der wirksame Anteil bei der modifizierten Methode auf

3368 F.D. Chloroformfraktion = »Gitalin«
und 1886 » Restglykosid . . . = Digitalein
<hr/>
zusammen 5254 F.D.,

wiedergefunden von 5550 F.D. im Ausgangsmaterial. Das beim Verfahren nach Kraft aufgetretene Defizit verringert sich also bis auf 296 F.D.

Die Messungen des Textes bei Kaltextrakt und bei Infus sind nach dem Kraftverfahren, die der Versuche S. 67 sind nach dem modifizierten Verfahren ausgeführt.