

IV.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über das Verhalten der Strophanthine im Verdauungstraktus.

I. Über die angebliche Spaltung der Strophanthine durch Fermente.

Von

Dr. Fritz Johannessohn.

Assistent am Institut.

Digitaliskörper und Strophanthine werden bekanntermaßen, per os gegeben, in weit größerer Menge vertragen als bei subkutaner und intravenöser Injektion. So beträgt beim Kaninchen die letale Dosis bei intravenöser Injektion nach Heffter und Sachs¹⁾:

für g-Strophanthin	0,16 mg pro Kilogramm
» k- » amorph	0,24 » » »
» k- » krystall.	0,16 » » »

Eigene Versuche stellten die letale Dosis nach Darreichung per os fest:

für g-Strophanthin ²⁾	auf 8 mg per Kilogramm
» k- » amorph	» 30 » » »
» k- » krystall.	» 20 » » »

Zu ähnlichen gewaltigen Unterschieden sind auch Maurel³⁾ und Lhoták⁴⁾ gelangt; ja ihre Zahlen für die Darreichung per os sind

1) Heffter und Sachs, Vergleichende Untersuchungen über Strophanthusglukoside. Biochem. Zeitschr. 40, 1912, S. 83.

2) g-Strophanthin, gewonnen aus den Samen von *Strophantus gratus*, kommt als kristallisiertes Produkt in den Handel. Benutzt wurde das von E. Merck und für die klinischen Versuche das von Dr. Heilmann und Hillringhaus unter dem Namen Purostrophan gelieferte Produkt. k-Strophanthin, gewonnen aus den Samen von *Strophanthus kome*, kann amorph und kristallinisch erhalten werden. Für die Versuche wurde das amorphe von der Firma Boehringer, als kristallinisches das von Heffter und Sachs persönlich hergestellte benutzt.

3) Maurel, Influence de la voie d'administration sur les doses minima mortelles d'ouabaine bzw. de strophanthine. Comptes rendus de la Société de Biologie Vol. 65, p. 15 bzw. Vol. 64, p. 315.

4) Lhoták von Lhota, Untersuchungen über den Einfluß des Magensaftes auf die per os verabreichten Digitalissubstanzen. Archives internat. d. Pharmacodynamie et de Thérapie Vol. XXIII, p. 307.

noch größer als die von mir erhobenen, liegen jedoch in einer Größenordnung mit den meinigen. Diese Differenz wurde auf mangelhafte Resorption zurückgeführt. Doch hat schon 1897 Deucher¹⁾ für Digitalin und Linzenmaier²⁾ 1909 für Strophanthin die Zersetzbarkeit durch den Magensaft nachgewiesen. Im Jahre 1910 äußerte Schmiedeberg³⁾ dann ganz allgemein, es könne durch die Verdauungssäfte eine Spaltung und teilweise Entgiftung eintreten; für diese Behauptung hat Holste⁴⁾ 1912 den experimentellen Beweis angetreten, indem er verschiedene Herzgifte einer künstlichen Verdauung unterwarf. Als Testobjekt für die noch vorhandene Giftstärke benutzte er das isolierte Froschherz, das am Williams'schen Apparat arbeitete. Er ließ auf den Digitalisaufguß Diastase, Papain, Speichel, Emulsin, Magensaft und Pankreatin einwirken und konnte stets nach Einwirkung dieser Stoffe eine deutliche Abschwächung des Aufgusses beobachten. Da sich hier nächst dem Magensaft das Pankreatin am wirksamsten gezeigt hatte, benutzte er es fast ausschließlich für die weiteren Versuche, bei denen er u. a. für kristallinisches g-Strophanthin und amorphes k-Strophanthin keine Abschwächung, dagegen für g-Strophanthin in Ampullen deutliche Abschwächung feststellte. Holste kommt zu dem Schlusse, »daß die verschiedenen Stoffe der Digitalin-Gruppe durch die Verdauungsfermente, sowie Diastase und Emulsin mehr oder weniger rasch unwirksam gemacht werden, was sicherlich durch eine fermentative Spaltung zu erklären ist«.

Diese Annahme Holstes, daß bei der Entgiftung die Fermente die Hauptrolle spielen, berührt um so merkwürdiger, als bereits vor ihm Deucher (1897) auf Grund genauer Untersuchungen am ganzen Frosch für die durch den Magensaft bedingte Abschwächung der Digitalinwirkung hauptsächlich die Salzsäure verantwortlich macht. (Übrigens hat Deucher auch schon damals den Einfluß des Pankreas-saftes auf das Digitalin untersucht und keine Abschwächung gefunden.)

Aber trotz dieser Deucherschen Versuche ist die Holstesche Annahme von anderen Autoren als bewiesen übernommen worden.

1) Deucher, Deutsches Archiv f. klin. Medizin 1897, Bd. 58.

2) Linzenmaier, Über innerliche Anwendung von g-Strophanthin (Thoms). Heidelberger Inauguraldissertation 1909.

3) Schmiedeberg, Untersuchungen über die Bestimmung des pharmakolog. Wirkungswertes der getrockneten Blätter von Digitalis purpurea. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 62, 1910.

4) Holste, Über das Verhalten der Stoffe der Digitalin-Gruppe gegen Fermente. Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Bd. 68, 1912.

Ewald Hessel¹⁾, der seine Versuche am ganzen Frosch vornahm, benutzte als Fermente Pepsinsalzsäure, Papain und Pankreatin. Er fand eine unbedeutende Abschwächung des g- und amorphen k-Strophanthins durch Pepsinsalzsäure, dagegen durch Pankreatin nur eine Abschwächung des kristallisierten k-Strophanthins. Auch er bezieht die eingetretene Abschwächung auf eine Wirkung des Fermentes.

Interessant sind dann die Versuche Lhotáks von Lhota²⁾, der bei Kaninchen g-Strophanthin und auch Digitoxin direkt ins Duodenum brachte und fand, daß die intraduodenale letale Dosis bei weitem geringer als die perorale ist. Auch nach Neutralisation des Magensaftes mit Natriumkarbonat wird die perorale Dosis geringer. Lhota kann daher im Gegensatz zu Holste nicht das Pankreatin und überhaupt Pankreas- und Darmsaft als entgiftende Faktoren anerkennen, sondern nur den Magensaft, von dessen Bestandteilen er das Pepsin als das eigentlich wirksame Agens auffaßt.

Um aber den Fermenten diese abschwächende Wirkung zuschreiben zu können, wären wohl Kontrollversuche mit gekochtem Ferment bzw. ohne Ferment nötig gewesen. Denn wenn auch Holste angibt, es seien »nebenher Kontrollversuche mit entsprechenden Lösungen von Säuren und Alkalien ohne Fermentzusatz angestellt worden, welche sämtlich negative Resultate ergaben«, so findet sich in den Protokollen doch nur achtmal die Angabe, daß Natrium carbonicum ohne Ferment zugesetzt sei, und zwar merkwürdigerweise direkt zur Nährflüssigkeit; jedenfalls ist über keinen Versuch berichtet, in dem das Natriumkarbonat oder die Salzsäure allein im Thermostaten eben so lange wie die Lösung mit Fermentzusatz auf die Gifte eingewirkt hätte. Bei den anderen Autoren, die sich auf Holste beziehen, fehlen aber Kontrollversuche ganz. Daß das aktive Ferment diese entgiftende Wirkung entfalten müsse, ist also bis jetzt nicht sicher erwiesen.

Die nachfolgenden Untersuchungen wurden unternommen, um diese Lücke auszufüllen und festzustellen, welche Rolle die Fermente eigentlich bei der Entgiftung spielen. Es wurde der Einfluß der künstlichen Magen- und Pankreasverdauung auf g-Strophanthin Thoms, amorphes und kristallisiertes k-Strophanthin, sowie die Tinctura Strophanthi untersucht. Benutzt wurde Pepsin »Finzelberg«, das sich im Vorversuch sehr kräftig eiweißverdauend zeigte, und »Trypsinogen«,

1) Hessel, Beiträge zur Kenntnis der Bestandteile und Wirkungen der Strophanthusdrogen. Sitzungsberichte und Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock. Neue Folge, Bd. V, 1913.

2) a. a. O.

ein neues Pankreaspräparat, das als Proferment durch Pankreasfistel gewonnen und in dieser Form oder durch Enterokinase aktiviert von der Aktiengesellschaft Pharmakon in Petersburg in den Handel gebracht wird. Wie aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich, zeigte sich das aktivierte Trypsinogen den anderen im Handel befindlichen Pankreaspräparaten zum mindesten gleichwertig. Setzt man die Verdauungskraft von Trypsinogen für Eiweiß-, Stärke- und Fettsplaltung gleich 1, so ergaben sich für die anderen zum Vergleiche herangezogenen Fermente in den Vorversuchen folgende Werte:

Für	Eiweiß	Stärke	Fett
Trypsin (Merck)	1	—	—
Pankreatin (Brückner & Lampe)	1	1	0,93
Pankreon (Rhenania)	0	< 0,3	—
Pankreatin (Rhenania)	0,4	< 0,3	—

Diese hier gefundene geringe Wirksamkeit von Pankreon und Pankreatin (Rhenania) hat übrigens auch schon Fuld¹⁾ beobachtet.

Es wurde nun meist so vorgegangen, daß eine verhältnismäßig starke Konzentration der Strophanthine (1:1000—1:2000) mit den Verdauungsflüssigkeiten 22 Stunden bei 37° gehalten und dann die erforderlichen Verdünnungen hergestellt wurden. Das hat den Vorteil, daß die eingetretene Abschwächung annähernd quantitativ bestimmt werden konnte. Daneben wurden aber auch Versuche angestellt, in denen gleich die erforderliche schwache Konzentration 22 Stunden bei 37° gehalten wurde.

Die Strophanthustinktur wurde in der Weise zur Untersuchung herangezogen, daß 20 ccm der aus der Apotheke beschafften offiziellen Tinktur auf dem Wasserbade vom Alkohol befreit wurden. Der Rückstand wurde mit 20 ccm heißer Ringerlösung aufgenommen und nach dem Erkalten filtriert. Das Filtrat [F'] erzielte in der Verdünnung 1:600 systolischen Stillstand.

Als Testobjekt diente das isolierte Herz ungarischer Wasserfrösche von durchschnittlich 90 g Gewicht, das nach der Straub'schen Methode präpariert war.

Die von Heffter und Sachs²⁾ für ungarische Eskulenten schon festgestellte schwächste Konzentration, die typischen Ventrikelstill-

1) Siehe in Wagner, von Jauregg und Gustav Bayer, Lehrbuch der Organotherapie 1914, S. 265.

2) Heffter und Sachs, a. a. O.

stand in spätestens 30 Minuten hervorzurufen imstande ist, ließ sich auch in meinen Versuchen zu

- 1: 25 000 für g-Strophanthin
- 1: 200 000 » amorphes k-Strophanthin
- 1: 100 000 » kristallisiertes k-Strophanthin

feststellen.

Für die Tinctura Strophanthi betrug diese Konzentration (s. o.)

F: 600.

I. Einfluß von Pepsinsalzsäure.

Die Lösung, die 22 Stunden bei 37° stand, war eine n/20 HCl, die 3 ‰ Pepsin und 0,5 ‰ bzw. 1 ‰ Strophanthin enthielt. Für die Prüfung am Herzen wurde sie mit Natriumkarbonat neutralisiert und passend verdünnt mit Ringerlösung.

Die schwächste Konzentration, die systolischen Ventrikelstillstand bewirkte, betrug

- für g-Strophanthin 1: 25 000
- » amorphes k-Strophanthin . . . 1: 50 000
- » kristallisiertes k-Strophanthin 1: 40 000.

g-Strophanthin bleibt also unbeeinflusst, während das amorphe k-Strophanthin bis auf $\frac{1}{4}$ und das kristallisierte k-Strophanthin bis auf $\frac{2}{5}$ der früheren Wirksamkeit abgeschwächt worden sind.

Versuche, in denen mehr Pepsin als oben angegeben angewandt wurde, ließen nicht etwa eine weitere Abschwächung der Wirksamkeit erkennen, im Gegenteil die Abschwächung wurde geringer. Wenn diese Tatsache nun schon gegen eine bedeutendere Rolle des Pepsins bei der Abschwächung spricht, so war es doch noch nötig, auch den Einfluß des gekochten Fermentes zu untersuchen. Zu dem Zwecke wurde die n/20 HCl mit einem Gehalt von 3 ‰ Pepsin dreimal aufgekocht und nach dem Erkalten mit den Strophanthinen versetzt, so daß ihr Gehalt daran 0,5 bzw. 1 ‰ betrug. Diese Lösung stand dann gleichfalls 22 Stunden bei 37° und wurde dann für die Versuche am isolierten Froschherzen neutralisiert und mit Ringerlösung passend verdünnt. Die schwächste Konzentration, die systolischen Stillstand hervorrief, betrug

- für g-Strophanthin 1: 25 000
- » amorphes k-Strophanthin . . . 1: 50 000
- » kristallisiertes k-Strophanthin 1: 40 000.

Es zeigt sich also auch bei Verwendung des gekochten Fermentes dieselbe Abnahme der Wirkung wie bei der Verwendung des nicht gekochten. Daher kann man also dem Fermente eine Rolle bei der Abschwächung der Wirkung nicht zuerkennen. Es bliebe nun noch übrig, den positiven Beweis dafür zu führen, daß die Salzsäure allein dieselbe Abschwächung hervorzurufen imstande ist. Auch in dieser Beziehung wurden Versuche angestellt.

II. Einfluß von Salzsäure.

Benutzt wurde eine $n/20$ HCl, die ja ungefähr der Säurekonzentration des normalen menschlichen Magensaftes entspricht, die auch 0,5 bzw. 1,0‰ Strophanthin enthielt. Bei der Tinctura Strophanthi wurden gleiche Teile des Filtrates F' und einer $n/10$ HCl zusammengebracht. Auch hier fand natürlich für die Prüfung am Froschherzen Neutralisation mit Natriumkarbonat und passende Verdünnung mit Ringerlösung statt. Die schwächste Konzentration, die systolischen Ventrikelstillstand hervorrief, betrug

1 : 25000	für g-Strophanthin
1 : 25000	» amorphes k-Strophanthin
1 : 20000	» kristallisiertes k-Strophanthin
F' : 300	» Tinctura Strophanthi.

Auch hier bleibt also g-Strophanthin unbeeinflusst, während das amorphe k-Strophanthin bis auf $\frac{1}{8}$, das kristallisierte auf $\frac{1}{5}$ und die Tinctura Strophanthi auf $\frac{1}{2}$ der früheren Wirksamkeit abgeschwächt wurde. Vergleicht man diese Werte mit den durch Einwirkung von Pepsinsalzsäure erhaltenen, so sieht man, daß die Salzsäure allein doppelt so stark gewirkt hat wie die Pepsinsalzsäure. Man kann sich das so erklären, daß die Salzsäure durch das Pepsin gebunden worden ist. Auf diese Weise läßt sich auch die oben angegebene Beobachtung erklären, daß bei vermehrtem Pepsinzusatz die Abschwächung geringer wird; es wird eben durch die größere Pepsinmenge mehr Salzsäure gebunden.

Jedenfalls beweisen diese Versuche, daß bei der Abschwächung der Strophanthine durch Pepsinsalzsäure einzig und allein die Salzsäure in Betracht kommt und daß das Pepsin nicht einmal die Rolle eines Katalysators spielt, sondern durch Bindung der Salzsäure diese an der Entfaltung ihrer Wirksamkeit hindert.

Im Anschluß wurde der Einfluß der künstlichen Pankreasverdauung untersucht.

III. Einfluß von aktiviertem Trypsinogen.

Benutzt wurde eine 1‰ige Natriumkarbonatlösung, die $\frac{1}{2}$ ‰ Trypsinogen activ. und 0,5‰ bzw. 1,0‰ Strophanthin enthielt. Die Tinctura Strophanthi wurde in der Weise benutzt, daß gleiche Teile des Filtrates *F* und einer 2‰igen Natriumkarbonatlösung, die 1‰ Trypsinogen activ. enthielt, zusammengebracht wurden. Zur Prüfung am Froschherzen wurden die Lösungen dann mit Ringerscher Flüssigkeit passend verdünnt. Die schwächste Konzentration zur Herbeiführung systolischen Ventrikelstillstandes betrug

1 : 25000	für g-Strophanthin
1 : 200000	> amorphes k-Strophanthin
1 : 60000	> kristallisiertes k-Strophanthin
<i>F</i> : 600	> Tinctura Strophanthi.

Es wird hier also nur eine Abschwächung des kristallisierten k-Strophanthins bis auf $\frac{3}{5}$ der früheren Wirksamkeit beobachtet, das sich auch in den Versuchen Hessels als am wenigsten widerstandsfähig gezeigt hatte.

IV. Einfluß von Natriumkarbonat.

Benutzt wurden dieselben Zusammensetzungen wie die unter III angegebenen, nur daß hier natürlich der Trypsinogenzusatz wegfiel. Die schwächste zum systolischen Ventrikelstillstand führende Konzentration betrug

1 : 25000	für g-Strophanthin
1 : 200000	> amorphes k-Strophanthin
1 : 60000	> kristallisiertes k-Strophanthin
<i>F</i> : 600	> Tinctura Strophanthi.

Es wurde also durch Natriumkarbonat allein dieselbe Abschwächung des kristallisierten k-Strophanthins hervorgerufen wie mit Zusatz von Ferment. Bemerken möchte ich, daß auch noch erheblich größere Fermentmengen angewandt wurden, ohne jedoch an dem Grade der Abschwächung etwas zu ändern. Auch gekochtes Ferment ließ ich auf das kristallisierte k-Strophanthin einwirken und erhielt dieselbe Abschwächung auf 1 : 60000 = $\frac{3}{5}$ der früheren Wirksamkeit.

Da nun aber die Alkaleszenz des Pankreassekretes nach den Untersuchungen von Auerbach und Pick¹⁾ nicht einer Natrium-

1) Auerbach und Pick, Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt 43, 1912, S. 155.

karbonatlösung, sondern einer mit CO₂ gesättigten Natriumbikarbonatlösung entspricht, wurden auch mit dieser Versuche unternommen.

V. Einfluß von Natriumbikarbonat.

Benutzt wurde eine 1‰ige Lösung von Natriumbikarbonat, die 0,5 bzw. 1‰ Strophanthin enthielt und durch die ein CO₂strom 22 Stunden lang bei 37° geleitet wurde. Es betrug bei dieser Versuchsanordnung die schwächste Konzentration, die Ventrikelstillstand herbeiführte,

- 1 : 25000 für g-Strophanthin
- 1 : 200000 » amorphes k-Strophanthin
- 1 : 20000 » kristallisiertes k-Strophanthin.

Es wird also auch hier nur das kristallisierte k-Strophanthin, und zwar erheblicher als durch Natriumkarbonat abgeschwächt.

Die angeführten Versuche lassen erkennen, daß bei der Abschwächung der Strophanthine durch Verdauungssäfte entgegen den bisherigen Anschauungen nicht die Enzyme, sondern die schwach saure bzw. schwach alkalische Reaktion das Wesentliche sind. Besonders beweisend ist die Tatsache, daß die Salzsäure allein sogar die Wirksamkeit der Strophanthine mehr abschwächt als in Verbindung mit Pepsin, eine Erscheinung, die sich wohl durch eine Bindung der Säure durch das Pepsin erklären läßt. Daß die H- bzw. OH-Ionen die für die Entgiftung wesentlichen Faktoren sind, kann nicht weiter überraschen, da es ja bekannt ist, daß k-Strophanthin sowohl in amorpher wie in kristallisierter Form durch stark verdünnte Säuren bei 70—80° leicht und fast vollständig gespalten wird. Das g-Strophanthin wird dagegen erst nach längerem Kochen durch verdünnte Säuren gespalten und zeigte sich daher auch in unseren Versuchen am widerstandsfähigsten.

Da nun die bisher hauptsächlich in der Therapie angewandte Tinctura Strophanthi durch n/20 Salzsäure bis auf die Hälfte abgeschwächt wird, lag der Gedanke nahe, es könne der bei manchen Stauungserscheinungen im Magen fehlende Effekt der Strophanthintherapie nicht nur auf mangelnder Resorption, sondern vielleicht auch auf einem Einfluß von sauren Gährungsprodukten beruhen. Es kommt hier wohl in der Hauptsache auf die Gährungsmilchsäure an. So habe ich auch Versuche mit ihr angestellt, und zwar in der Konzentration, wie sie wohl im Magen vorhanden ist, nämlich 1/2—1‰.

VI. Einfluß von Milchsäure.

Benutzt wurde eine n/160 und n/80 Milchsäure mit einem Strophanthingehalt von 0,5—1,0 ‰. Auch sie wurde für die Prüfung am Herzen neutralisiert. Quantitativ wurde nur der Einfluß auf amorphes kombe-Strophanthin und Tinctura Strophanthi untersucht. Die schwächste Konzentration, die Ventrikelstillstand herbeiführte, betrug

bei n/160	bei n,80	
Milchsäure	Milchsäure	
1 : 25000	1 : 25000	für g-Strophanthin
1 : 150000	1 : 100000	» amorphes kombe-Strophanthin
> 1 : 100000	> 1 : 100000	» kristallisiertes k-Strophanthin
F: 400	F: 300	» Tinctura Strophanthi.

Es wird demnach auch schon durch diese geringen Milchsäurekonzentrationen eine deutliche Abschwächung der kombe-Strophanthine und der Tinctura Strophanthi, und zwar für das amorphe kombe-Strophanthin auf $\frac{3}{4}$ — $\frac{1}{2}$, für Tinctura Strophanthi auf $\frac{2}{3}$ — $\frac{1}{2}$ der früheren Wirksamkeit erzielt. Das gratus-Strophanthin zeigte sich auch hier, wie von vornherein erwartet wurde, völlig unbeeinflusst.

Zusammenfassung.

1. Bei der teilweisen Entgiftung der Strophanthine durch die Verdauungssäfte sind nicht die Fermente, sondern die H- und OH-Ionen das wirksame Agens.
2. Durch die OH-Ionen wird nur das kristallisierte k-Strophanthin, durch die H-Ionen das kristallisierte und amorphe kombe-Strophanthin sowie die Tinctura Strophanthi abgeschwächt. Kristallisiertes gratus-Strophanthin ließ in keinem Falle eine Abschwächung erkennen.
3. Der bei manchen Stauungszuständen mitunter fehlende Effekt der bisherigen Strophanthintherapie kann wohl zum Teil auf den Einfluß saurer Gährungsprodukte bezogen werden.
4. Es dürfte sich empfehlen, bei der internen Strophanthusmedikation nur noch das kristallisierte g-Strophanthin zu verwenden, da es sich den Verdauungssäften gegenüber am widerstandsfähigsten gezeigt hat.