

Sumner

Reimer, Leopold

Auhinna 100

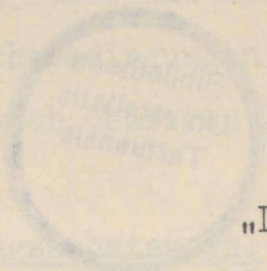
366 995

#1113.

„ TULEB UURIDA KODUMAA KONNAMATERJALI

DIGITALIS-TUNDELIKKUSE SUHTES

STANDARTPREPARAATIDEGA. "



„Digitalis“

1. DETS. 1936 TUNNUSTATUD

T AUHINNA VAARILISEKS

Autor: *Leopold Reimer, stud. med.*

U. Sekr.

Ulik. sekr.

Zur Lösung der Frage wie sich die Empfindlichkeit des einheimischen Froschmaterials gegen Digitalis verhält, schien ursprünglich die Auswertung eines internationalen Standardblätterpulvers der naheliegendste Weg zu sein. Es würde sich nach Bestimmung des Blätterwertes eines solchen Standards die Empfindlichkeit der Frösche ergeben. Durch das Entgegenkommen von Prof. K. Fromherz, der um Zusendung eines standardisierten Blätterpulvers gebeten wurde, konnte in anderer Art an die Ausführung des Versuchs geschritten werden. Es wurde nämlich ein und dasselbe Blätterpulver von „Caesar-Loretz“ (folia digitalis titrata D.A.B.VI) gleichzeitig in Basel und hier ausgewertet. Bei gleicher Methodik und gleichen Versuchsbedingungen schien diese Art der Behandlung der Aufgabe einen noch besseren Vergleich in der Empfindlichkeit der Frösche zuzulassen.

Prüfungssubstanzen.

Auf Vorschlag von Prof. Fromherz wurde eine „Digalenstandardsubstanz“, die wir von ihm erhielten, gleichzeitig bei der Auswertung der Blätter zur Kontrolle mitgeprüft. Diese „Digalenstandardsubstanz“ ist ein Gesamtglykosidpräparat aus folia digitalis purpureae ¹⁾, dass bei Auswertungen des von der Firma „Hoffmann-La Roche“ hergestellten „Digalens“ benutzt wird. Es wurde also erstens das Blätterpulver „Cäsar-Loretz“ und zweitens parallel dazu die „Digalenstandardsubstanz“ geprüft. Von der von „Cäsar-Loretz“ bezogenen Originalflasche war die Hälfte in Basel entnommen, der Rest hierher gesandt worden. Die verwendete Droge war also zuverlässig identisch. In allen Versuchen wurde ein Soxhletextrakt des Blätterpulvers geprüft. Da ein Kaltextrakt mit 40% - gem Alkohol desselben Blätterpulvers, der auch von Fromherz verwandt wurde, in einigen Versuchen mitgeprüft wurde, war es

möglich, die Werte zweier verschieden hergestellter Extrakte und den der Digalenkontrollsubstanz mit den Baseler Ergebnissen zu vergleichen. Allerdings konnte aus Mangel an Froschmaterial der Kaltextrakt mit 40%-gem Alkohol nicht in allen Versuchen zur Anwendung kommen.

Bevor ich auf die Methodik näher eingehe, möchte ich erwähnen, dass die Versuche nach Vereinbarung mit Prof. Fromherz möglichst unter denselben Bedingungen wie in Basel ausgeführt wurden. Die Einzelheiten werden weiter unten bei den Versuchen jeweils erwähnt werden.

Herstellung der Extrakte und Lösungen.

Die Herstellung des Soxhletextraktes wurde folgendermassen ausgeführt: 5 g des Blätterpulvers wurden mit ca 130 - 140 ccm absolutem Alkohol durchschnittlich 14 Stunden lang im Soxhlet extrahiert. Der Extrakt bei vermindertem Druck auf ca 20 ccm eingeeengt und mit destilliertem Wasser auf 100,0 ccm verdünnt. Es resultierte also eine 5%-ge Lösung mit ca 20 % Alkoholgehalt. Bei der Extraktion fiel gewöhnlich ein Teil der gelösten Substanz aus und schlug sich an den Wänden des Gefässes nieder. Dieser Niederschlag liess sich aber leicht in destilliertem Wasser lösen. Die 5%-ge Lösung war von grünlicher Farbe und stellte eine trübe Emulsion dar, Jedoch wurde ein weiteres Ausfallen der Substanz nicht beobachtet.

Zur Bereitung eines Kaltextraktes mit 40%-gem Alkohol wurden 5 g Blätterpulver mit 50 ccm 40%-gem Alkohol 20 Stunden lang auf der Schüttelmaschine geschüttelt; dann sofort abgenutscht und das Filtrat zu gleichen Teilen mit aqua destillata verdünnt. Der so erhaltene 5%-ge Extrakt hatte einen Alkoholgehalt von 20%, war von bräunlicher Farbe und klar.

Die Digalenkontrollsubstanz liess sich völlig in 96%-gem Alkohol lösen. Es wurden 15 mg des Pulvers auf der analytischen Wage abgewogen und im 1 ccm 96%-gem Alkohol gelöst. Dann wurde mit 20%-gem Alkohol auf 15 ccm aufgefüllt und diese Lösung nochmals mit 20%-gem Alkohol

zu gleichen Teilen verdünnt.

Sowohl die Extrakte als auch die Lösung der Digalenkontrollsubstanz wurden unmittelbar nach der Herstellung nach Bedarf weiter verdünnt und verwendet.

Froschmaterial.

Die Versuche wurden am männlichen Frosch ausgeführt. Es sei hier gesagt, dass nicht genügend Frösche zur Verfügung standen, um eine genaue Einhaltung der günstigsten Gewichte (25 - 40 g) zu ermöglichen.²⁾ Es mussten daher auch Frösche bis zu 45 g mit in Benutzung genommen werden. Frösche unter 25 g sind nicht gebraucht worden. Ebenfalls wurden Frösche mit Geschwürsbildungen, Wunden oder sonstigen Anomalien ausbrakiert. Im Durchschnitt betrug das Gewicht ca 34,5 g. Bei der Verteilung der Frösche auf die einzelnen Gruppen, wurden ihre Gewichte im Auge behalten und so verteilt, dass sich in jeder Gruppe Frösche mit höherem und niedrigerem Gewicht befanden. Damit wurde ein ziemlich gleichmässiges Durchschnittsgewicht der Gruppen erreicht. Es schwankte selten mehr als um 1 g. Das Gewicht der Tiere wurde nach Abpressen des Harnes und Abtrocknung der Haut mit einer Genauigkeit von 0,5 g bestimmt. Gewöhnlich wurden die Frösche 48 Stunden jedenfalls aber 24 Stunden vor Beginn der Injektion aus dem Bassin in den Versuchsraum gebracht und gewogen, wo sie sich unter geräumiger Glasbedeckung auf Tellern oder in Glasburken mit genügend Wasser befanden.

Die Temperatur des Versuchsraumes wurde möglichst konstant gehalten und betrug im Mittel 14 ° C. Schwankungen der Temperatur während der Versuchsdauer kamen höchstens um 2 ° C. vor. Nach einer Mitteilung von Prof.K.Fromherz betrug die Temperatur des Baseler Versuchsraumes 14 - 17 ° C. wobei Schwankungen bis zu 3 ° C. innerhalb eines Versuches zugelassen wurden.

Injektion und Dosierung.

Auch hinsichtlich der Injektionsmethode und der Dosierung wurde mit Prof. Fromherz ein völlig gleichartiges Vorgehen vereinbart. Zur Injektion diente eine in 1/100 ccm geeichte Tuberkulinspritze. Es wurde mit einer langen, dünnen Nadel unterhalb des Knies eingestochen und die Nadel durch die zwei Lymphscheiden bis in den Bauchlymphsack geführt und hier die Lösung injiziert. Damit sollte ein nachträgliches Ausfliessen der injizierten Flüssigkeit verhindert werden.

Es wurde jedem Frosch 0,02 ccm der Lösungen pro Gramm Körpergewicht eingespritzt. Dosierte wurde nur durch die Verdünnung der entsprechenden Lösung. Wenn 0,02 ccm einer Lösung p/g Frosch die mittlere letale Dosis ist, d.h. 50 % aller Tiere einer Gruppe tötet, so enthält 1 ccm dieser Lösung 50 Froschdosen (F.D.). Verdünnt man eine derartige Lösung so, dass eine 1‰-ge Lösung resultiert, so muss sie 50.000 F.D. enthalten, falls sie 50 % aller Tiere tötet. Unter diesen Bedingungen wurde daher eine 1‰-ge Lösung mit "50.000" F.D. bezeichnet. Um weitere Verdünnungen herzustellen, wurde z.B. 5 ccm der "50.000" F.D. Lösung mit 5 ccm 20%-gem Alkohol verdünnt, man erhält dann eine Lösung die 100.000 F.D. enthält. Auf diese Weise erhielt man gewünschte Verdünnungen und bezeichnete dieselben von vorne herein mit der F.D. Anzahl, die sie geben, falls sie 50 % aller Tiere einer Gruppe töten.

Bei dieser Dosierung ergibt sich erstens der Vorteil, dass einem 35 g schweren Frosch bei jedem Versuch immer 0,70 ccm Lösung injiziert wird und weiter, dass keiner der in den Versuchen verwendeten Frösche mehr als 0,90 ccm erhält. Zweitens aber wird die Rechenarbeit ausserordentlich erleichtert und mechanisiert, so dass Verluste durch Rechenfehler nicht vorgekommen sind.³⁾ Endlich ermöglicht diese Methode die Berechnung der Endergebnisse direkt in F.D. und nicht in Einzeldosen.

Ablesung des Resultates und Berechnung.

Die Ablesung des Resultates wurde nach 24 Stunden nach der zeitlosen Methode von Houghton-Straub vorgenommen ²⁾. Dabei wurden die Tiere nicht gefensterert, denn man sieht dem Frosch ohne weiteres an, ob er nur gelähmt oder tot ist. Schwer gelähmte Frösche zählten zu den Lebenden; eine bei solchen schwer gelähmten Fröschen zur Kontrolle vorgenommene Fensterung ergab stets ein schlagendes Herz. Diese Art der Ablesung wurde auch von Fromherz in Basel angewendet ¹⁾.

Die Berechnung erfolgte nach Einigung mit Basel nach der Methode von Wiechowsky ⁴⁾. Die Berechnung bei Sarmo ³⁾ und in sonstigen Arbeiten aus dem hiesigen Pharmakologischen Institut ⁵⁾ erfolgte nach der Kärber'schen Formel. Wie aus der Arbeit von Behrens und Kärber ⁶⁾ zu ersehen, führt aber auch das hier angewandte einfachere Verfahren zu brauchbaren Ergebnissen. Auch beim Auftreten negativer Werte (bei kleinen Dosen stärkere Wirkung als bei höheren) liefert diese Berechnungsmethode wie aus der gleichen Arbeit von Behrens und Kärber hervorgeht richtige Resultate.

Nachstehende Versuchsreihen wurden im März 1936 vorgenommen. Die Auswertung erfolgte an insgesamt 280 Fröschen. Auf den Soxhletextrakt entfielen 112, auf den Kaltextrakt 48 und auf die Digalenkontrollsubstanz 120 Frösche. Der Soxhletextrakt und die Digalenkontrolle wurden parallel in vier Versuchen geprüft. In den Versuchen No.1 und 2 konnte der Kaltextrakt mitgeprüft werden. Aus Mangel an Fröschen wurde aber in den Versuchen No.3 und 4 der Kaltextrakt fortgelassen.

Auswertung No.1.

Datum: 4.III. - 6.III.

Temperatur: 14 ° - 15,5 ° C.

Mittleres Gewicht der Frösche: 33,7 g

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol.

"Konzentr.in F.D. = 2000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
44,0	0,88	+
36,5	0,73	+
34,0	0,68	-
33,0	0,66	+
31,5	0,63	+
27,0	0,54	+

"Konzentr.in F.D.= 1500"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
42,5	0,85	+
34,5	0,69	+
34,0	0,68	-
31,5	0,63	+
32,5	0,65	+
27,0	0,54	-

"Konzentr.in F.D.= 1250"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
39,5	0,79	+
36,0	0,72	+
34,5	0,69	+
31,0	0,62	+
29,5	0,59	+
28,5	0,57	+

"Konzentr.in F.D.= 1000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
39,5	0,79	+
36,0	0,72	+
34,5	0,69	+
33,0	0,66	+
32,5	0,65	+
30,5	0,61	+

Anm.: In der Rubrik "Resultat" bedeutet: + = tot

- = lebt.

b) Kaltextrakt mit 40%-gem Alkohol.

"Konzentr.in F.D. = 2000"

Frosch	Injiziert	Resultat
Gew.g.	ccm	Resultat
38,0	0,76	+
36,5	0,73	+
36,0	0,72	+
34,0	0,68	+
33,5	0,67	+
29,5	0,59	-

"Konzentr.in F.D.= 1500"

Frosch	Injiziert	Resultat
Gew.g.	ccm	Resultat
43,0	0,86	+
38,0	0,76	+
35,5	0,71	+
35,5	0,71	+
33,5	0,67	+
28,5	0,57	+

"Konzentr.in F.D. = 1250"

Frosch	Injiziert	Resultat
Gew.g.	ccm	tat
39,5	0,79	+
38,5	0,77	+
36,5	0,73	+
34,5	0,69	+
30,0	0,60	+
26,5	0,53	+

"Konzentr.in F.D.= 1000"

Frosch	Injiziert	Resultat
Gew.g.	ccm	Resultat
36,0	0,72	+
38,5	0,77	+
38,0	0,76	+
34,5	0,69	+
30,0	0,60	+
25,5	0,51	+

c) Digalenkontrollsubstanz .

"Konzentr.in F.D. = 200000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
40,5	0,81	+
36,0	0,72	-
37,5	0,75	-
30,5	0,61	-
29,5	0,59	-
27,0	0,54	-

"Konzentr.in F.D. = 150000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
38,5	0,77	+
36,0	0,72	-
34,5	0,69	+
32,0	0,64	-
29,0	0,58	+
32,5	0,65	+

"Konzentr.in F.D. = 125000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
39,5	0,79	+
36,5	0,73	+
34,0	0,68	+
32,0	0,64	+
31,5	0,63	+
30,5	0,61	+

"Konzentr.in F.D.= 100000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
39,0	0,78	+
33,5	0,67	+
31,5	0,63	+
30,0	0,60	+
27,0	0,54	+
28,5	0,57	+

Auswertung No.2:

Datum: 10.III. - 12.III.

Temperatur: 17 ° - 15 ° C.

Mittleres Gewicht der Frösche: 33,8 g

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol."Konzentr.in F.D. = 3000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	-
37,0	0,74	+
32,5	0,65	-
31,5	0,63	+
30,5	0,61	-
27,0	0,54	-

"Konzentr.in F.D. = 2000"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
42,0	0,84	+
38,0	0,76	-
33,0	0,66	+
31,5	0,63	+
30,0	0,60	+
28,5	0,57	+

"Konzentr.in F.D.= 1500"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
39,0	0,78	+
38,0	0,76	+
34,5	0,69	+
31,0	0,62	+
30,0	0,60	+
28,5	0,57	+

"Konzentr.in F.D. = 1000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
40,5	0,81	+
39,5	0,79	+
35,0	0,70	+
32,0	0,64	+
31,0	0,62	+
29,0	0,58	+

b) Kaltextrakt mit 40%-gem Alkohol.

"Konzentr.in F.D.= 3000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	+
36,5	0,73	+
32,0	0,64	-
31,5	0,63	-
30,0	0,60	-
29,5	0,59	-

"Konzentr.in F.D.= 2000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
42,0	0,84	+
36,0	0,72	-
34,0	0,68	+
31,5	0,63	-
30,5	0,61	+
27,5	0,55	+

"Konzentr.in F.D. = 1500"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
38,5	0,77	+
38,5	0,77	+
34,0	0,68	+
31,5	0,63	+
30,5	0,61	+
28,0	0,56	+

"Konzentr.in F.D. = 1000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
41,5	0,83	+
38,5	0,77	+
35,5	0,71	+
32,0	0,64	+
30,5	0,61	+
28,5	0,57	+

c) Digalenkontrollsubstanz.

"Konzentr.in F.D. = 300000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
42,0	0,84	-
36,5	0,73	-
32,5	0,65	-
31,5	0,63	-
30,0	0,60	-
29,5	0,59	-

"Konzentr.in F.D. = 200000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	-
36,0	0,72	+
33,0	0,66	-
31,5	0,63	+
30,0	0,60	-
27,5	0,55	-

"Konzentr.in F.D. = 150000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
40,0	0,80	-
38,0	0,76	+
34,0	0,68	-
31,5	0,63	+
30,5	0,61	+
28,0	0,56	+

"Konzentr.in F.D. = 100000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
39,0	0,78	+
38,0	0,76	+
35,0	0,70	+
32,0	0,64	+
30,0	0,60	+
29,0	0,58	+

Auswertung No.3.

Datum: 16.III. - 19.III.

Temperatur: 13,5 ° - 12,0 ° C.

Mittleres Gewicht der Frösche: 34,3 g.

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol.

"Konzentr.in F.D. = 3500"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
44,5	0,89	-
42,5	0,85	-
39,0	0,78	-
36,5	0,73	-
35,0	0,70	-
34,5	0,69	-
33,0	0,66	-
32,5	0,65	-
26,5	0,53	-
26,5	0,53	-

"Konzentr.in F.D. = 2000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	-
45,0	0,90	+
37,5	0,75	+
34,5	0,69	-
33,0	0,66	+
33,0	0,66	+
31,5	0,63	+
30,5	0,61	-
26,5	0,53	-
25,0	0,50	-

"Konzentr.in F.D. = 1500"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
44,5	0,89	+
41,5	0,83	+
38,5	0,77	+
36,0	0,72	+
34,5	0,69	+
33,0	0,66	+
32,5	0,65	+
32,0	0,64	+
29,0	0,58	+
26,5	0,53	+

"Konzentr.in F.D. = 1000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	+
45,0	0,90	+
42,0	0,84	+
36,5	0,73	+
36,0	0,72	+
34,5	0,69	+
32,5	0,65	+
31,5	0,63	+
29,0	0,58	+
27,0	0,54	+

b) Digalenkontrollsubstanz.

"Konzentr.in F.D. = 300000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
40,5	0,81	-
37,5	0,75	-
36,5	0,73	-
35,5	0,71	-
34,5	0,69	-
32,5	0,65	-
29,0	0,58	-
26,5	0,53	-
27,0	0,54	-
26,0	0,52	-

"Konzentr.in F.D. = 200000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
42,5	0,85	-
42,0	0,84	+
36,0	0,72	-
34,5	0,69	+
34,5	0,69	-
32,5	0,65	-
31,5	0,63	-
29,0	0,58	-
28,5	0,57	-
26,5	0,53	-

"Konzentr.in F.D. = 150000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
40,5	0,81	+
40,0	0,80	-
38,5	0,77	+
38,0	0,76	-
36,5	0,73	+
36,5	0,73	-
36,0	0,72	+
33,0	0,66	+
31,5	0,63	+
30,5	0,61	-

"Konzentr.in F.D. = 100000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
40,0	0,80	+
39,5	0,79	+
33,5	0,67	+
33,5	0,67	+
31,5	0,63	+
31,5	0,63	+
31,5	0,63	+
28,5	0,57	+
28,0	0,56	+
27,5	0,55	+

Auswertung No.4.

Datum: 25.III. - 27.III.

Temperatur: 11 ° - 12° C.

Mittleres Gewicht der Frösche: 35,1 g.

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol.

"Konzentr.in F.D. = 3500"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	-
45,0	0,90	-
38,0	0,76	-
36,0	0,72	-
34,5	0,69	-
31,5	0,63	-
28,5	0,57	-
26,0	0,52	-

"Konzentr.in F.D. = 2500"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
44,5	0,89	-
44,5	0,89	-
39,0	0,78	+
35,0	0,70	-
34,5	0,69	-
28,0	0,56	-
27,0	0,54	-
26,0	0,52	-

"Konzentr.in F.D. = 1500"

Frosch Gew.g.	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	+
41,0	0,82	+
40,0	0,80	+
35,0	0,70	+
33,5	0,67	+
32,0	0,64	+
28,0	0,56	+
30,5	0,61	+

b) Digalenkontrollsubstanz.

"Konzentr.in F.D. = 300000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	-
42,5	0,85	-
38,0	0,76	-
36,5	0,73	-
34,5	0,69	-
28,0	0,56	-
27,5	0,55	-
26,0	0,52	-

"Konzentr.in F.D. = 200000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	-
44,5	0,89	-
39,5	0,79	-
36,0	0,72	+
34,0	0,68	-
29,5	0,59	+
27,5	0,55	+
26,5	0,53	-

"Konzentr.in F.D. = 150000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	+
44,0	0,88	+
38,0	0,76	-
35,5	0,71	-
34,0	0,68	+
30,5	0,61	+
27,0	0,54	+
26,5	0,53	+

"Konzentr.in F.D. = 100000"

Frosch Gew.g	Injiziert ccm	Resultat
45,0	0,90	+
41,0	0,82	+
40,5	0,81	+
33,5	0,71	+
32,5	0,65	+
29,0	0,58	+
27,0	0,54	+
25,0	0,50	+

Berechnung der Auswertung No.1.

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol:

3500	0								
		5	x	2750	=	13750			
2000	5	- 1	x	1750	= -	1750			
1500	4								
		2	x	1375	=	2750			
1250	6								
						14750	:	6	= <u>2458 F.D.</u>

b) Kaltextrakt mit 40%-gem Alkohol:

3500	0								
		5	x	2750	=	13750			
2000	5	1	x	1750	=	1750			
1500	6								
						15500	:	6	= <u>2583 F.D.</u>

c) Digalenkontrollsubstanz:

125000	6								
		2	x	137000	=	275000			
150000	4	3	x	175000	=	525000			
200000	1	1	x	250000	=	250000			
300000	0								
						1050000	:	6	= <u>175000 F.D.</u>

Berechnung der Auswertung No.2.

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol:

3500	0								
3000	2	2	x	3250	=	6500			
2000	5	3	x	2500	=	7500			
1500	6	1	x	1750	=	1750			
						15750			
							:	6	= <u>2625 F.D.</u>

b) Kaltextrakt mit 40%-gem Alkohol:

3500	0								
3000	2	2	x	3250	=	6500			
2000	4	2	x	2500	=	5000			
1500	6	2	x	1750	=	3500			
						15000			
							:	6	= <u>2500 F.D.</u>

c) Digalenkontrollsubstanz:

300000	0								
200000	2	2	x	250000	=	500000			
150000	4	2	x	175000	=	350000			
100000	6	2	x	125000	=	250000			
						1100000			
							:	6	= <u>183333 F.D.</u>

Berechnung der Auswertung No.3.

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol:

3500	0								
		5	x	2750	=	13750			
2000	5								
		5	x	1750	=	8750			
1500	10								
						22500			
							:	10	= <u>2250 F.D.</u>

b) Digalenkontrollsubstanz:

300000	0								
		2	x	250000	=	500000			
200000	2								
		4	x	175000	=	700000			
150000	6								
		4	x	125000	=	500000			
100000	10					1700000			
							:	10	= <u>170000 F.D.</u>

Berechnung der Auswertung No.4.

a) Soxhletextrakt mit absolutem Alkohol:

3500	0								
		1	x	3000	=	3000			
2500	1								
		7	x	2000	=	14000			
1500	8					17000			
							:	8	= <u>2125 F.D.</u>

b) Digalenkontrollsubstanz:

300000	0								
		3	x	250000	=	750000			
200000	3								
		3	x	175000	=	525000			
150000	6								
		2	x	125000	=	250000			
100000	8					1525000			
							:	8	= <u>190625 F.D.</u>

Obgleich der Wirkungswert des Blätterpulvers ungefähr bekannt war, wurde in der Auswertung No.1 der Soxhletextrakt und der Kaltextrakt zu niedrig angesetzt, da man annehmen konnte, dass unsere Frösche weniger empfindlich sind. Somit wurde die Gruppe in der alle Tiere leben nicht erreicht. Aus den Versuchen No.2,3 und 4 geht aber hervor, dass dieser Fall in der Gruppe "3500" eintritt. Basierend auf diesen Versuchen wurde die Berechnung der Endergebnisse der Auswertung No.1 vorgenommen. Im Mittel ergabensich folgende Zahlen:

für den Soxhletextrakt	1 g folia	2363 F.D.
" "	Kaltextrakt mit 40%-gem Alkohol..	1 g f..2540 F.D.
"	die Digalenkontrollsubstanz ..	1 g.....179739 F.D.

Die grösste Abweichung vom Mittelwert betrug beim Soxhletextrakt - 11%, und bei der Digalenkontrolle - 6 %. Dass der Kaltextrakt einen so hohen Wert ergab, steht nicht in Einklang mit den Ergebnissen, über die Fromherz im Jahre 1932 berichtet.⁷⁾ Damals erhielt Fromherz für den Soxhletextrakt 2300 F.D. und für den Kaltextrakt 1700 F.D. Man kann annehmen, dass verschiedene Blätter bei verschiedenen Extraktionsmethoden ungleiche Mengen von wirksamen Digitalisstoffen in Lösung geben.

Die Prüfung von Prof.Fromherz, die gleichzeitig in Basel ausgeführt wurde, ergab folgende Resultate:

Soxhletextrakt	1 g folia	2253 F.D.
Kaltextrakt	1 g folia	2100 F.D.
Digalenkontrollsubstanz	1 g	139200 F.D.

Die Wertbestimmung des Soxhletextraktes wurde mit drei frisch bereiteten Extrakten an insgesamt 130 Fröschen ausgeführt. Die grösste Abweichung vom Mittelwert betrug - 21 %. Die Bestimmung des Kaltextraktes mit 40%-gem Alkohol wurde ebenfalls 3 Mal vorgenommen, im Ganzen an 100 Fröschen. Die parallele Wertbestimmung der Digalen-

kontrollsubstanz erfolgte an 90 Fröschen. Innerhalb der drei letzten Jahre wurde übrigens für die Digalenkontrollsubstanz ein Mittelwert von 137.000 F.D. gefunden. Werte von 180.000 F.D. wurden nie gefunden, und nur selten Werte von 160.000 F.D.

Es ergibt sich also, dass die einheimischen Frösche in diesen Versuchen in bezug auf die angewendeten Blätter (Cäsar-Loretz) eine gleiche Empfindlichkeit wie die Baseler Tiere aufwiesen. Dagegen scheint die Empfindlichkeit gegen die Digalenkontrollsubstanz grösser zu sein.

Bevor ich näher auf diese Resultate eingehe, seien hier ergänzende Versuche angeführt, die im Herbst 1936 Ende September und Anfang Oktober ausgeführt wurden. Der Zweck dieser Versuche war festzustellen, falls im Herbst eine Änderung in der Empfindlichkeit eintrat, ob die Empfindlichkeit gegen Blätter einerseits und gegen Digalenkontrolle andererseits parallel schwankt.

Es wurden zwei frisch hergestellte Soxhletextrakte und ein Kaltextrakt mit 40%-gem Alkohol aus denselben Blättern, wie sie in den Winterversuchen gebraucht wurden, und einmal die Digalenkontrollsubstanz geprüft. Die Versuche wurden unter gleichen Kautelen wie im Winter ausgeführt. Die Temperatur betrug 13,5 - 14 ° C. Die Auswertung erfolgte an insgesamt 91 Herbstfröschen und ergab:

Soxhletextrakt	1 g folia	1285 F.D.
Kaltextrakt	1 g folia	1428 F.D.
Digalenkontrollsubstanz.....	1 g	150000 F.D.

Die Empfindlichkeit gegen Blätter hatte also abgenommen und zwar sank der Blätterwert um 46%. Dagegen zeigte die Digalenkontrolle eine Abnahme von nur 17%.

Nach diesen Ergebnissen scheint es nicht möglich zu sein, die gestellte Frage nach der Empfindlichkeit der einheimischen Frösche gegen Digitalis in einer Richtung eindeutig zu beantworten. Es scheint

vielmehr notwendig, einen Unterschied in der Empfindlichkeit gegen Blätter und Digalenkontrolle zu machen. Während nach vorliegenden Versuchen unsere Frösche gegen das Blätterpulver von Cäsar-Loretz eine gleiche Empfindlichkeit wie die Baseler Frösche aufwiesen, konnte ein gegenteiliges Verhalten bei der Digalenkontrollsubstanz beobachtet werden. Dabei zeigte sich weiter, dass die Empfindlichkeit der Frösche gegen die beiden Substanzen in verschiedenem Verhältnis schwankt. Also ist es auch nicht zulässig die Digalensubstanz als Kontrolle für die hier gebrauchten Blätter anzuwenden.

In seiner kürzlich erschienenen Arbeit ¹⁾ konnte Fromherz u.a. zeigen, dass nur durch Verwendung qualitativ gleichartiger Standardsubstanzen grobe Fehler ausgeschaltet werden können. Denn es schwankt die Empfindlichkeit der Frösche für verschiedene Glykoside in verschiedenem Verhältnis. Es dürfen demnach Gesamtglykosidpräparate mit Reinsubstanzen und umgekehrt nicht verglichen werden.

Die in vorliegenden Versuchen gebrauchte Digalenkontrollsubstanz ist aber ein Gesamtglykosidpräparat aus folia digitalis purpureae, und wurde mit einem Blätterpulver, das wohl auch sämtliche Digitalisglykoside enthalten müsste, hinsichtlich der Empfindlichkeit verglichen. Die Tatsache, dass trotzdem die Empfindlichkeit gegen beide Substanzen in verschiedenem Verhältnis schwankte, dürfte darauf zurückzuführen sein, dass es sich bei der Digalenkontrollsubstanz um ein gereinigtes Gesamtglykosidpräparat, bei den alkoholischen Extrakten dagegen um ein durch Begleitstoffe verunreinigtes Gemisch handelt.

Um wenigstens über die Empfindlichkeit gegen Blätterpulver ein eindeutiges Urteil fällen zu können, erscheint es notwendig, noch andere Blätterpulver in derselben Weise vergleichend auszuwerten.

Es wurde allerdings ein schwedisches Blätterpulver "Astra" in Versuchen, die zum Teil zu Übungszwecken dienten und an nicht ganz einwandfreiem Froschmaterial vorgenommen wurden, ausgewertet. Das Ergebnis der Winterversuche zeigte für den Soxhletextrakt einen beträchtlich niedrigeren Wert als für Cäsar-Loretz-Blätter und zwar 1300 F.D. Ein im Herbst vorgenommener Versuch konnte zahlenmässig wegen zu niedrigen Ansatzes der Verdünnungen nicht erfasst werden, doch zeigte er immerhin, dass der Wert unter 1000 F.D. zu liegen kommt. Dieses Absinken des Wertes stimmt also annähernd mit dem der Cäsar-Loretz-Blätter überein. Indessen fehlten vergleichende Versuche in Basel. Daher kann über die Empfindlichkeit der Frösche gegen diese Blätter kein Urteil gefällt werden. Es ist keineswegs sicher, dass die Empfindlichkeit gegen diese Blätter hier und in Basel übereinstimmen wird. Denn es scheinen verschiedene Blätter eine wechselnde Tendenz in der Abgabe ihrer wirksamen Stoffe zu zeigen. (cf.S.19) Es wäre daher möglich, dass sich dieses Verhalten auch auf die Empfindlichkeit bemerkbar machen wird.

Literatur.

- 1) K.Fromherz, Naunyn Schmiedeberg's Archiv 182. S.55 (1936).
- 2) E.Knaffel - Lenz, Die internationalen Methoden u.Standards der biologischen Wertbestimmung. S.28 (F.C.W.Vogel - Leipzig 1928)
- 3) A.Sarmo, "Pharmacia" No.9, 1933.
- 4) W.Wichowsky, Naunyn Schmiedeberg's Archiv 128. S.135 (1928).
- 5) G.Barkan u. E.Käer, "Pharmacia" No.3 S.54,(1935).
- 6) Kärber u.Behrens, Naunyn Schmiedeberg's Archiv 177. S.385 (1934).
- 7) K.Fromherz, Naunyn Schmiedeberg's Archiv 165. S.407 (1932).

366 995
Auhinnatöö
Reimer, Leopold. l.
Tuleb uurida kodu-
maa konna materjali...
1936