

Med. g. 617<sup>a</sup> (42)

---

ABHANDLUNGEN ZUR  
GESCHICHTE DER MEDIZIN  
UND DER NATURWISSENSCHAFTEN

Herausgegeben von Rolf Winau und Heinz Müller-Dietz

---

Heft 42

Die Entwicklung  
der Methoden zur  
Physiologischen  
Wertbestimmung  
von Digitalispräparaten

von

Alexander Berghaus

---

Matthiesen Verlag

---



ABHANDLUNGEN ZUR  
GESCHICHTE DER MEDIZIN  
UND DER NATURWISSENSCHAFTEN

Heft 42

Die Entwicklung  
der Methoden zur  
Physiologischen  
Wertbestimmung  
von Digitalispräparaten

von

Alexander Berghaus

Matthiesen Verlag

Med. g. 617<sup>a</sup> (42)

Herausgegeben von:  
Rolf Winau und Heinz Möller-Dietz  
CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

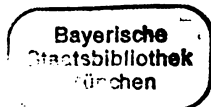
**Berghaus, Alexander:**

Die Entwicklung der Methoden zur physiologischen  
Wertbestimmung von Digitalispräparaten / von Alexander  
Berghaus. – Husum : Matthiesen, 1982.

(Abhandlungen zur Geschichte der Medizin und der  
Naturwissenschaften ; H. 42)

ISBN 3-7868-4042-3

NE: GT



© 1982 by Matthiesen Verlag Ingwert Paulsen jr.,  
Nordbahnhofstraße 2, D-2250 Husum  
Satz: Fotosatz Husum GmbH  
Druck und Verarbeitung: Husum Druck- und Verlagsgesellschaft  
Postfach 1480, D-2250 Husum  
ISBN 3-7868-4042-3

8/1567



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>7</b>
1.1	Übersicht	7
1.2	Der Gegenstand der Untersuchung	7
1.3	Stand der Forschung	8
1.4	Methodisches Vorgehen	9
1.5	Die „Chemische Wertbestimmung“	9
<b>2.</b>	<b>Hauptteil</b>	<b>11</b>
2.1	Die historische Entwicklung der Methoden zur Physiologischen Wertbestimmung der Digitalis	11
2.1.1	Die ersten Tierversuche	11
2.1.2	Aufwendigere Versuche zur Erforschung der Digitaliswirkung	14
2.1.2.1	Versuche mit Kaltblütern	14
2.1.2.2	Versuche mit Warmblütern	21
2.1.3	Versuche, die dem qualitativen oder quantitativen Vergleich verschiedener Zubereitungen dienen	26
2.1.3.1	Methoden zum Wirkungsvergleich an Kaltblütern	26
2.1.3.2	Wirkungsvergleich an Warmblütern	37
2.1.4	Die Methoden zur „Physiologischen Wertbestimmung“	46
2.1.4.1	Verwendung von Kaltblütern	47
2.1.4.2	Verwendung von Warmblütern	81
2.1.4.2.1	Die Katzenmethode	81
2.1.4.2.2	Verwendung von Hunden	85
2.1.4.2.3	Verwendung von Meerschweinchen	86
2.1.4.2.4	Verwendung von Kaninchen	87
2.1.4.3	Diverse	90
2.1.4.3.1	Versuche mit der Maus	90
2.1.4.3.2	Versuche mit der Taube	91
2.1.4.3.3	Versuche mit Ratten	92
2.1.4.3.4	Versuche mit Schildkröten	92
2.1.4.3.5	Versuche mit Fischen	92
2.1.4.3.6	Versuche mit Einzellern	93
2.1.4.3.7	Versuche mit Pflanzen	93
2.1.4.3.8	Klinische Methoden	93
2.1.5	Die Konferenzen von Edinburgh und Genf	95
2.2	Schlußbemerkungen	98

<b>3.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>101</b>
<b>4.</b>	<b>Anmerkungen</b>	<b>103</b>
<b>5.</b>	<b>Literatur</b>	<b>113</b>
	a) Quellen	113
	b) Sekundärliteratur	131

# 1. EINLEITUNG

## 1.1 Übersicht

Die geschichtliche Entwicklung der Therapie mit Herzglykosiden läßt sich in vier Phasen einteilen (1):

1. Phase: Verwendung der Nativdroge.
2. Phase: Anwendung von biologisch standardisierten Extrakten.
3. Phase: Gewinnung und Verordnung von Reinglykosiden.

In diese Phase fällt die Konkretisierung der Dosis durch die von AUGSBERGER eingeführten Begriffe Vollwirkspiegel, Resorptionsquote, Abklingquote, Persistenzquote und Erhaltungsdosis (2).

4. Phase: Entwicklung und Einführung von halbsynthetischen herzwirksamen Glykosiden.

Die pharmazeutische Industrie ist derzeit in Phase 4 eingetreten, die Phasen 1 und 2 gehören der Vergangenheit an.

## 1.2 Der Gegenstand der Untersuchung

Der Beginn der modernen Digitalisforschung und der Therapie mit Herzglykosiden überhaupt wird allgemein mit der Arbeit von W. WITHERING (3) in Zusammenhang gebracht, die 1785 veröffentlicht wurde (4).

WITHERING und seine Zeitgenossen befanden sich in der Phase 1 der oben genannten Einteilung, was bedeutet, daß ihnen keine Hilfsmittel zur Einschätzung der richtigen Digitalisdosierung zur Verfügung standen. Als Orientierungshilfe diente lediglich die Beobachtung von Symptomen bei Patienten, die auf eine ausreichende Gabe der Droge schließen ließen. Da jedoch solche Reaktionen – wie das Erbrechen – oft bereits Anzeichen einer Vergiftung waren, wurde häufig zu hoch dosiert (5).

Man kann – wie dies in HAGERs Handbuch der Pharmazeutischen Praxis versucht wird (6) – die Steigerung der Dosis von Digitalis-Blattpulver bis zum Auftreten von Erbrechen als einen ersten Ansatz zur biologischen Standardisierung deuten. Eine wirkliche biologische oder „physiologische“ Wertbestimmung von Digitalispräparaten und damit der Eintritt in die Phase 2 in der Therapie mit Herzglykosiden fand jedoch erst gegen Ende des 19. Jahrhunderts statt. Diese Phase ist – im Rahmen der am Institut für Geschichte der Medizin der Freien Universität Berlin unter R. WINAU durchgeführten Untersuchung zur Geschichte der experimentellen Pharmakologie und Toxikologie – Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Wie hier gezeigt werden soll, waren Voraussetzung und Basis für die Entwicklung von Methoden zur physiologischen Wertbestimmung die bereits im 18. Jahrhundert einsetzenden und zum Teil im direkten zeitlichen Zusammenhang mit WITHERINGS Veröffentlichung begonnenen Tierversuche (7) mit der Digitalispflanze, die zunächst sehr einfach aufgebaut waren und auch oft ohne konkretere Zielsetzung lediglich der Beobachtung der Wirkung auf das Tier dienten (8).

Dennoch wurden bereits bei diesen einfachen Versuchsanordnungen einige grundlegende Beobachtungen gemacht und festgehalten, die – wie z. B. der systolische Herzstillstand des Froschherzens nach Digitalisvergiftung – später den Kern von physiologischen Wertbestimmungsverfahren darstellten.

Auch der methodische Aufbau der Wertbestimmungs- oder Standardisierungsversuche mußte nicht neu entworfen werden, sondern konnte von bereits bekannten und über Jahrzehnte weiterentwickelten Verfahren zur Untersuchung der Digitaliswirkung übernommen werden. Dabei waren die unmittelbaren Vorgänger der Standardisierungsmethoden solche Versuche, bei denen zwei oder mehr Digitalispräparate am Tier miteinander verglichen werden sollten, zunächst in ihrer allgemeinen Wirkung, also qualitativ, später auch in ihrer Wirkungsstärke, also quantitativ.

Die Phase der Anwendung biologischer Wertbestimmungsmethoden zur besseren Dosierung von Digitalispräparaten erstreckte sich vom Ende des 19. bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts (9) und ging dann mit der Reindarstellung von Herzglykosiden in die Phase 3 über.

### **1.3 Stand der Forschung**

Die Geschichte der Digitalispflanze ist durch zahlreiche Untersuchungen und Einzeldarstellungen gut bekannt (10). Die Phase 2 der Anwendung von biologischen Wertbestimmungsmethoden findet allerdings meist nur knappe Erwähnung (11), selten wird das methodische Vorgehen zur Wertbestimmung genauer beschrieben, wie etwa bei HAAS (12), dem es dabei um die Problematik bei der Übertragung von am Tier gewonnenen Ergebnissen auf den Menschen geht. Eine zusammenhängende Darstellung des Überganges von Phase 1 in Phase 2, also der Entwicklung der Methoden zur biologischen Wertbestimmung, ist dem Verfasser jedoch nicht bekannt, wenngleich gerade in neuerer Zeit – anlässlich des häufig so genannten „Zweihundertjährigen Jubiläums“ (13) seit der Arbeit von WITHERING – mehrere historische Übersichten zur Digitalisgeschichte erschienen sind (14).

## 1.4 Methodisches Vorgehen

In der Absicht, die Entwicklung der Methoden zur Standardisierung von den ersten Anwendungen der Digitalis an Tieren überhaupt bis hin zu den ausgefeilten und international bis ins Detail genormten Wertbestimmungen darzustellen, wurde methodisch der umgekehrte Weg beschritten: Ausgehend von den leichter zugänglichen neueren Veröffentlichungen wurde unter Benutzung der angegebenen Quellen Schritt für Schritt der Ursprung der jeweiligen Versuchsanordnungen überprüft und durch Quellenstudium gesichert.

Da sich im Zeitraum der Anwendung von biologischen Wertbestimmungsmethoden meist der einzelne Untersucher nur mit einer Methode beschäftigte – z. B. der „Froschmethode“ oder einer Säugetiermethode an Hund, Katze oder Taube –, schien es zur besseren Übersichtlichkeit sinnvoll, die Entwicklung der Methoden von vornherein nach Kaltblütern und Warmblütern getrennt darzustellen.

Es wird jedoch hervorgehoben, daß bei den Vorläufern der Wertbestimmungsmethoden um die Mitte des 19. Jahrhunderts meist von einem Untersucher mehrere Tierarten verwendet wurden.

## 1.5 Die „Chemische Wertbestimmung“

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, mit anderen als biologischen Methoden den Wert eines Digitalispräparates zu bestimmen, z. B. mit physikalischen oder chemischen Verfahren. Diese wenigen Experimente blieben jedoch in ihrer Bedeutung weit hinter den „physiologischen“ zurück, solange nicht die Reindarstellung der Digitalisglykoside auf breiter Basis möglich war. Eine chemische Analyse von Digitalispräparaten aber war erst in Phase 3 unserer historischen Einteilung möglich.

Jedoch sollen zum besseren Verständnis auch die älteren Versuche in dieser Richtung hier kurz erläutert werden, weil später gelegentlich auf sie zurückgegriffen wird.

So versuchte der Apotheker SCHNEIDER in Sprottau 1878 eine Beziehung zwischen dem Spezifischen Gewicht der Trockensubstanz und dem Wert einer Tinktur herzustellen, kam aber selbst zu dem Ergebnis, daß dies nicht möglich sei (15).

Bedeutsamer war die Arbeit des Kantonsapothekers C.C. KELLER aus

Zürich, der 1895 die Stärke von Digitalisblättern an ihrem Gehalt an Digitoxin messen wollte, einem der ersten nahezu völlig rein dargestellten Glykoside (16). KELLER bestimmte den Digitoxingehalt mit einem von ihm entwickelten chemischen Nachweisverfahren. Die Methode wurde allgemein als „Chemische Methode“ schlechthin bekannt. Daß sie nicht zuverlässig sein konnte, erscheint heute, da uns z.B. in der Digitalis lanata nicht nur 1 herzwirksames Glykosid, sondern nicht weniger als 60 bekannt sind (17), durchaus verständlich. Aber auch schon damals, in der Phase 2 der Therapie mit Digitalis, setzte sich diese Methode nicht durch und ihre Unterlegenheit gegenüber biologischen Wertbestimmungsverfahren wurde mehrfach im Vergleich nachgewiesen (18).

## 2. HAUPTTEIL

### 2.1 Die historische Entwicklung der Methoden zur Physiologischen Wertbestimmung der Digitalis

#### 2.1.1 Die ersten Tierversuche

JAMES JOHNSTONE , Arzt in Worcester, bediente sich seit dem Jahre 1776 des Fingerhutes (19), und zwar als harntreibendes Mittel. Die Arbeit von WITHERING (20) war ihm bekannt, er bezeichnete sie als eine „sehr brauchbare Schrift“ (21). In Geschmack und Farbe des Digitalisaufgusses fand er eine Ähnlichkeit zum Tabak und ließ daher seine Patienten auch getrocknete Fingerhutblätter rauchen. JOHNSTONE befaßte sich bereits mit der Frage des Wirkungsverlustes durch Aufbewahrung und schrieb dazu: „Ein Aufguß des getrockneten Pulvers, welchen ich in einer gut verstopften Bouteille wenigstens 5 Jahre aufbewahrt hatte, war von derselben braunen Farbe und starkem Geruche, gleich dem Tabak , so daß seine Kräfte durch die Aufbewahrung wenig oder gar nicht vermindert zu werden scheinen“ (21).

JOHNSTONE führte Versuche mit Fröschen und Schnecken durch, welche wohl jedoch kaum den Ansprüchen moderner Wissenschaft gerecht wurden. Es finden sich dazu auch nur einige Bemerkungen: „Zwei Frösche, welche abends in Absud gesetzt wurden, fand ich am Morgen darauf tot. Ich bemerkte auch, daß er, wie wohl langsam, und in einer ziemlichen Zeit, für Schnecken tödlich war“ (21). Jedoch fiel auch JOHNSTONE schon auf, daß es – aus welchen Gründen auch immer – Unterschiede in der Wirksamkeit der Digitalis bzw. der Empfindlichkeit der Versuchstiere gab: „Doch schien eine von ihnen mehr erstickt, als vergiftet, und mochten andere nur wenig davon angegriffen worden sein“ (22).

Im weiteren äußerte sich JOHNSTONE zu der Anwendung an Patienten und stellte allerlei Spekulationen über den Wirkungsmechanismus der Digitalis an.

KARL-CHRISTIAN SCHIEMANN, seit 1787 praktischer Arzt in Mitau (23), führte die in seiner Göttinger Dissertation von 1786 beschriebenen Versuche (24) zur Erforschung der Wirkung und der Vergiftungssymptome der Digitalis durch. Er gab Hunden enteral steigende Dosierungen eines Infuses, einer Lösung und eines Destillats von Digitalisblättern bzw. -pulver. Dabei beobachtete er u.a. den Puls, dessen Reduktion er bereits als Maß für die Wirksamkeit der Substanzen nahm, was erst viel später wieder von anderen für

Wertbestimmungsmethoden aufgegriffen worden ist.

Deutlich aufwendiger waren bereits die Versuche von MATHEO JOSÉ ORFILA in Paris (25). ORFILA machte seine Versuche mit Digitalis um die Jahrhundertwende zur Klärung der Frage, an welchen Organen der rote Fingerhut seine tödliche Wirkung entfaltet. Dazu benutzte er Hunde verschiedener Größe, die allerdings nie genau gewogen wurden, und applizierte dann Digitalispulver, wässriges Extrakt, harziges Extrakt und eine Tinktur. Die Applikationsweise war verschieden, einerseits oral – zum Teil mit Unterbindung des Schlundes – , andererseits intravenös in die Jugularvene und schließlich auf Wunden, die dann zugenäht wurden.

So machte ORFILA 18 Versuche, bei denen er seine Beobachtungen recht genau beschrieb, auch mit auf Minuten genauen Zeitangaben. Die Menge der Substanzen wurde offenbar ohne System willkürlich variiert. Bei der Beobachtung der Vergiftungserscheinungen fiel ORFILA immer wieder das Erbrechen auf, außerdem Pulsveränderungen, und zwar vorwiegend Verlangsamung, aber auch Beschleunigung und Unregelmäßigkeiten des Pulses.

Bei der Inspektion und Eröffnung der Leichen wandte ORFILA seine Aufmerksamkeit zunächst den Lungen und den Verdauungsorganen zu, gelegentlich dann aber auch dem Herzen, von dem er allerdings meistens nur berichtete: „Das Herz schlug nicht mehr“ (26). Lediglich in den Versuchen 13 und 16 findet sich in der Übersetzung von HERMBSTÄDT die Bemerkung: „Das Herz zog sich nicht mehr zusammen“ (27). Im Widerspruch zu BOEHM, welcher behauptet hat, daß ORFILA als einer der ersten den systolischen Herzstillstand nach Digitalisvergiftung beschrieben habe, könnte diese Bemerkung auch auf einen diastolischen Stillstand hinweisen (28).

Bemerkenswert sind die Feststellungen, die ORFILA in seiner Zusammenfassung zu den Experimenten gemacht hat. Immerhin hat er doch eindeutig auf der einen Seite graduelle Unterschiede in der Wirksamkeit der einzelnen Präparate festgestellt, auf der anderen Seite Unterschiede in der Empfindlichkeit der damit vergifteten Organismen (29):

„Die vorhergehenden Tatsachen erlauben uns den Schluß zu machen:

1. Daß das Pulver von der Digitalis sowie ihre wässrigen und harzigen Extrakte und ihre Tinktur in einer gewissen Dosis, als kräftige Gifte betrachtet werden müssen.
2. Daß das harzige Extrakt wirksamere giftige Eigenschaften besitzt als das wässrige, und daß das Pulver nicht so kräftig ist als letzteres.
3. Daß die Wirkung der Extrakte schnell und lebhaft ist, wenn man sie in die Jugularvene spritzt; daß sie es aber weniger ist, wenn man sie auf das Zellge-



webe legt, und noch weit weniger, wenn man sie in den Magen bringt und das Erbrechen verhindert.

4. Daß aber alle diese Präparate anfangs wie Brechmittel wirken.
5. Daß ihre Wirkungen auf die Organe der Zirkulation nach der Natur und Beschaffenheit der Individuen verschieden sind: Bald läßt sich in der Art, wie diese Funktion vor sich geht, keine Veränderung bemerken, bald lassen die Schläge des Herzens nach; sehr oft werden sie beschleunigt, stark, ungleich, intermittierend”.

Zu den Ersten, die ein Meßinstrument zur Objektivierung der Wirksamkeit von Digitalisinfus verwendeten, gehört JAMES BLAKE in London, der seine Ergebnisse 1839 veröffentlicht hat (30).

BLAKE untersuchte den Einfluß verschiedener intravenös eingebrachter Substanzen auf den Organismus von Tieren, insbesondere die Wirkung auf den Kreislauf. Er benutzte dazu ein Hämodynamometer, bei dem es sich im wesentlichen um ein an eine Arterie angeschlossenes Glasrohrsystem handelte, mit dem mittels einer Quecksilbersäule intraarterielle Druckschwankungen abgelesen werden konnten.

Bei seinen Versuchen mit Digitalisinfus benutzte BLAKE Hunde. Er beschrieb nach intravenöser Injektion die Veränderung der Atmung, des Blutdruckes und des Pulses. Dabei steigerte er die Dosis bis zum Herzstillstand, öffnete dann den Thorax und fand das Herz einmal in Systole und einmal in Diastole. BLAKE vermutete eine Wirkung der Digitalis auf die Kapillaren des Blutgefäßsystems. Um eine eventuelle Wirkung über das zentrale Nervensystem besser darstellen zu können, führte er auch Versuche durch, bei welchen das Digitalisinfus in die A. carotis injiziert wurde, damit es schneller das Gehirn erreichte.

Alle vorgenannten Untersucher können neben anderen zu den ersten Mitbegründern der experimentellen Pharmakologie mit der Digitalis allgemein gezählt werden.

Im folgenden wird versucht, jeweils nur diejenigen Versuche systematisch zusammenzufassen, die später für die Ausarbeitung der Standardisierungsmethoden von Bedeutung waren. Dabei stand zunächst die Erforschung der Digitaliswirkung im Vordergrund, später erst galten die Untersuchungen dem qualitativen und dann auch quantitativen Wirkungsvergleich verschiedener Zubereitungen.

## 2.1.2 Aufwendigere Versuche zur Erforschung der Digitaliswirkung

### 2.1.2.1 Versuche mit Kaltblütern

Einer der ersten, der überhaupt die Vergiftung eines Frosches durch Digitalis beschrieben hat, ist wohl JAMES JOHNSTONE gewesen (s. 2.1.1 ) (31).

Allerdings ist dabei die Frage nach der Todesursache noch nicht gestellt worden. Dieser Frage, die gleichzeitig die nach dem Wirkort der Substanz war, gingen etwa ab der Mitte des 19. Jahrhunderts zahlreiche Untersucher nach. Einige von ihnen führten ihre Untersuchungen nur an Kaltblütern – vorwiegend Fröschen – durch, die meisten experimentierten jedoch an mehreren Tierarten.

So auch HERMANN FRIEDRICH S.STANNIUS, Professor in Rostock, der 1846 - 1848 Experimente über den Einfluß der Nervi vagi, der N. sympathici und der Medulla oblongata auf die Herzbewegung verschiedener Tiere durchgeführt hatte (32).

An diese Untersuchungen schlossen sich ab 1848 die Untersuchungen zur Wirkung der Digitalis auf das Herz an, wobei STANNIUS teils einen Digitalisaufguß, teils Digitalin verwendete. Ziel der Untersuchungen war es, das Organ herauszufinden, auf welches das Gift wirkt, und die Reihenfolge der auftretenden Symptome zu bestimmen. Die Versuchstiere waren vorwiegend Katzen, aber auch ein Hund, Kaninchen, Frösche und Vögel. Die Substanzen wurden intraperitoneal, subkutan oder intravenös appliziert.

Im Gegensatz zu vielen anderen Untersuchern konnte STANNIUS bei Fröschen weder mit Digitalis noch mit Digitalin eine Wirkung erzielen, die über Muskelschwäche hinausging. STANNIUS selbst war darüber sehr überrascht und vermutete, daß die Stoffe im Blut einiger Tiere Umwandlungen und Zersetzungen erführen, die im Blut anderer Tiere ausblieben. Zur Lösung dieser Frage machte er auch Versuche am isolierten Froschherzen, welches er völlig von Blut entleerte und dann eine Digitalinauflösung einspritzte (33). Ähnliche Versuche führte er am Kaninchenherzen durch.

Die Untersuchungen, die STANNIUS an Warmblütern durchgeführt hat, sollen weiter unten behandelt werden.

Nur an Fröschen und froschverwandten Tieren (Wassermolchen, Kröten) hat ALFRED VULPIAN ab 1853 in Paris gearbeitet (34).

Seine Untersuchungsergebnisse widersprachen denen von STANNIUS, der nur eine sehr schwache Wirkung der Digitalis auf Frösche gefunden hatte.

VULPIAN, der das Digitalin von HOMOLLE und QUEVENNE verwendete, brachte eine kleine Menge davon in Pulverform unter die Haut des Rückens und fand unter diesen Bedingungen nach wenigen Minuten neben anderen Veränderungen das Schwächerwerden und schließlich den Stillstand des Herzschlages. Er hat immer wieder bei freigelegtem Herzen die Vergiftungserscheinungen beobachtet und detailliert beschrieben. Die Mengen des gegebenen Digitalin hat er nie gemessen, fand jedoch mit gewisser Regelmäßigkeit den vollständigen systolischen Herzstillstand nach etwa 15 Minuten. Diesen Ablauf sah er bei mehr als 15 Fröschen, während er bei einer zweiten Untersuchungsserie eine wesentlich schwächere Digitaliswirkung fand, weil, wie er glaubte, die Frösche der zweiten Serie wesentlich kräftiger und gesünder waren.

Auch bei Wassermolchen sah er die typische Digitaliswirkung, hier allerdings trat der Tod der Tiere etwa eine Stunde später ein.

Dagegen registrierte VULPIAN bei Kröten nach subkutaner Applikation von pulverisiertem Digitalin überhaupt keine Wirkung auf das Herz, auch nicht bei 10fach stärkerer Dosis.

Um zu beweisen, daß Digitalis direkt auf das Herz wirkt, hat VULPIAN zusätzlich Versuche durchgeführt, bei denen der Frosch zunächst mit Curare gelähmt wurde, wobei das Herz weiter schlug. Dann wurde Digitalinpulver subkutan appliziert. Zu seiner Überraschung konnte VULPIAN an diesen Herzen auch 18 oder 20 Stunden nach der Curaregabe noch die typischen Digitaliswirkungen beobachten.

Eine andere Zielsetzung hatten dagegen die Untersuchungen von CHARLES HILTON FAGGE und THOMAS STEVENSON, deren Ergebnisse 1865 veröffentlicht wurden (35). Es handelte sich um toxikologische Experimente zur Identifikation von Digitalin als Vergiftungsursache, bei denen der Wirkungsmechanismus am Menschen nicht gesucht wurde. Die Untersuchungsberichte zeichnen sich durch auffallende Genauigkeit aus, wie sie zur Unterscheidung verschiedener Giftwirkungen nötig war.

Da chemische Methoden zur damaligen Zeit zur Bestimmung von gewissen organischen Giften mangelhaft waren, jedoch viele dieser Substanzen eindeutige, bekannte Wirkungen auf niedere Tiere ausübten, wurden diese physiologischen Wirkungen als Tests für die Anwesenheit der Gifte benutzt. Wenngleich die Wirkung von Giften bei Menschen und bei niederen Wirbeltieren nicht immer dieselbe war, gingen FAGGE und STEVENSON davon aus, daß eine physiologische Beweisführung unabhängig von Beziehungen dieser Art

durchgeführt werden konnte. Dazu genügte es, daß die Giftwirkung einer Substanz auf das Tier, mit dem experimentiert wurde, immer wieder dieselbe war, wobei diese Wirkung von keinem anderen Mittel oder zumindest nur von einer begrenzten Anzahl anderer Mittel hervorgerufen werden sollte.

Das Digitalin schien den Untersuchern von besonderem allgemeinen Interesse, und die hierfür existierenden chemischen Tests waren besonders unzureichend. Die von ihnen verwendeten Tiere waren in allen Fällen Frösche. Zur Begründung heißt es (36):

„Ihre Empfindlichkeit schon für kleine Mengen des Giftes, die Tatsache, daß sie kaum von Angst oder anderen störenden Umständen befallen sind, sowie die Eigenständigkeit ihrer Organe, die es möglich macht, mit großer Genauigkeit die Art der produzierten Effekte zu bestimmen, lassen sie für diesen Zweck besser geeignet erscheinen als irgendwelche anderen Tiere; und der Einwurf, der im allgemeinen gegen ihre Verwendung angewendet wird, daß nämlich die Wirkung von Giften auf sie oft verschieden ist von der, die dieselben Substanzen auf höhere Tiere haben, hat keine Bedeutung, wenn man die Frage der physiologischen Beweisführung aus unserer Sicht betrachtet.“

Insbesondere gingen FAGGE und STEVENSON der Frage nach, ob tierische Extrakte oder solche, die man aus dem menschlichen Mageninhalt oder aus Erbrochenem gewonnen hat, für niedere Tiere giftig sein könnten. Sie fanden hierbei, daß eine toxische Wirkung von solchen Extrakten sehr wohl vorhanden, diese jedoch von der Wirkung des Digitalins sehr verschieden war.

Appliziert wurden die Substanzen subkutan, danach wurden auch exakte quantitative Bestimmungen durchgeführt (37):

„Wenn man Digitalin in die Haut der Frösche appliziert, so wird die charakteristische Wirkung unverändert hervorgerufen, wenn man nur eine ausreichende Menge verwendet. Diese Menge variiert zweifellos mit der Größe des Tieres, kann aber im allgemeinen bei 1/100 Grain festgesetzt werden. Quantitäten unterhalb 1/150 Grain rufen im allgemeinen keinen Effekt hervor, oder zumindest nur zeitweise Unregelmäßigkeiten der Herzaktion, in einer mehr oder weniger charakteristischen Weise. Das Ergebnis von Injektionen mit Dosen, die 1/100 Grain übersteigen, ist, daß das Intervall zwischen den Ventrikelschlägen verkürzt wird. Dieses Intervall scheint selten weniger als 6 oder 7 Minuten zu betragen, wie groß man die Menge an Digitalin auch immer wählt.“

FAGGE und STEVENSON haben also hier eine „kleinste tödliche Dosis“ bestimmt – die ja später als ‘MLD’ große Bedeutung gewinnt –, sowie auch die kleinste Zeit, die bis zum Herzstillstand immer vergeht.

Die als Kriterium für die Identifikation des Giftes „Digitalis“ ausgewählte Herzreaktion wird – wie wohl nie zuvor – minutiös beschrieben (38):

„Der charakteristische Effekt all dieser Substanzen auf Frösche ist die Auslösung von Unregelmäßigkeiten in der Herzreaktion, gefolgt von vollständigem Stillstand seiner Pulsationen; nachdem er aufgehört hatte zu schlagen, bleibt dabei der Ventrikel stark kontrahiert und vollständig gleich; die Muskelkraft des Tieres bleibt bis zu dieser Zeit ungemindert und bleibt genau so lange bestehen wie bei Fröschen, deren Zirkulation mit anderen Mitteln gestoppt worden war, wie z. B. durch Ligatur des Herzens. Die Unregelmäßigkeit der Herzaktion, die dem Stillstand vorausgeht, ist unter dem Einfluß dieser Gifte eine eigentümliche. Der Rhythmus wird kaum geändert; und die Schläge sind nicht notwendigerweise in ihrer Anzahl vermindert, wie man geglaubt hatte. Manchmal jedoch macht der Ventrikel nur einen Pulsschlag auf zwei der Vorhöfe, weshalb dann die Anzahl seiner Kontraktionen um die Hälfte vermindert ist. Häufiger besteht die Unregelmäßigkeit darin, daß einer oder mehrere Anteile des Ventrikels (besonders an der Spitze) deutlich weiß werden und sich kontrahieren, während der Rest des Organs sich weiterhin regelrecht dilatiert. Wenn diese nachlassenden Pulsaktionen kleiner werden, stellt sich eine besondere Erscheinung ein, als würde die Wand des Ventrikels karminrote Taschen oder Vorwölbungen bilden.

Keine andere Substanz außer den oben erwähnten hat diese Kette von Wirkungen hervorgerufen, auch nicht in einem einzelnen Experiment.“

Hier wird also ausdrücklich der systolische Herzstillstand als spezifisch für die Vergiftung mit Digitalispräparaten am Frosch hervorgehoben. Es ist dies der Endpunkt bei dem später als „Froschmethode“ bekannten Verfahren zur Wertbestimmung von Digitalispräparaten.

Besonders genau beobachtete RUDOLF BOEHM die Vergiftungserscheinungen des Digitalin am Froschherzen (39). Seine „Untersuchungen über die physiologische Wirkung der Digitalis und des Digitalin“, die 1872 veröffentlicht wurden, galten der Klärung der Frage, ob Digitalis auf dem Umweg über das Herz-Nervensystem oder direkt auf das Herz wirkt.

Bei der Versuchsanordnung wurden 1 - 3 Tropfen einer 5%igen Lösung von Digitalin „Merck“ in Glyzerin mit feinen Glaspipetten in den Schenkellymphsack eines Frosches eingeträufelt. Die zeitliche Reihenfolge der daraufhin ein-

Zeit.	Zahl der Herzschläge in 20 Sek.		Zeit.	Zahl der Herzschläge in 20 Sek.	
4 h 20	14	Die Contractionen des Ventrikels beginnen peristaltisch zu werden.	4 h 28		Plötzlich eintretende Ruptur der Vorhöfe: starke Blutung.
4 h 20	14		4 h 45		Ventrikel stark zusammengezogen, macht fast gar keine Bewegungen mehr. Vorhöfe schlagen 11 mal in 20 Sekunden.
4 h 21					
4 h 25	16	Die Diastole des Ventrikels ist dierot geworden. Vorhöfe in extremer Diastole stillstehend.			
4 h 25	15				
4 h 26					

## Versuch II (Frosch).

Herzschlag vor der Vergiftung mehrmals gezählt: 17 in 20 Sekunden.

2 h 56	17	2 gutt. Digitalinlösung injiziert.	3 h 35	10	Die Ventertrikelsysteme immer sehr kraftvoll und regelmäßig. Diastole sehr unvollständig und dierot. Die prall gefüllten Vorhöfe contrahiren sich fast gar nicht mehr.
2 h 56	16		3 h 35	6	
2 h 56	17		3 h 35	6	
3 h 0	17		3 h 36	9	
3 h 10	17		3 h 36	6	
3 h 12	16		3 h 36	11	
3 h 12	17		3 h 37	11	
3 h 12	17		3 h 37	7	
3 h 15	17		3 h 37	7	
3 h 18	17		3 h 38	11 11 11	
3 h 20	16	Jede zweite Diastole sehr unvollständig, indem nur ein kleiner Theil des Ventrikels an der Basis sich ausdehnt.	3 h 39	11 10 8	3 gutt. Digitalin in die Bauchhöhle injiziert. Sogleich darauf bekommt der Frosch Tetanus und das Herz steht 20 Sekunden lang in Diastole still; dann treten peristaltische Bewegungen d. Ventrikels ein.
3 h 20	15		3 h 40	7 10 9	
3 h 20	14		3 h 40	7 10 9	
3 h 25	14		3 h 41	9 10 9	
3 h 25	14		3 h 42	10 10 9	
3 h 25	14		3 h 43	10 9 10	
3 h 26	14		3 h 43	9 9 9	
3 h 26	14		3 h 45	9 8 9	
3 h 26	14		3 h 46	9 8 9	
3 h 27	13		3 h 47	8 8 9	
3 h 30	13	Der Ventrikel bleibt 5 Sekunden lang in Diastole stehen. Wiederholte diastolische Stillstände.	3 h 48	8 8 8	
3 h 32	10		3 h 49	8 7 8	
3 h 32	10		3 h 50	9 8 8	
3 h 33	10		3 h 55	8 8 8	
3 h 33	10		3 h 56	8 7 8	
3 h 33	10		3 h 57	8 7 8	
3 h 33	10		4 h 0		
3 h 33	10				
3 h 33	10				
3 h 33	10				

Zeit.	Zahl der Herzschläge in 20 Sek.		Zeit.	Zahl der Herzschläge in 20 Sek.	
4 h 3	9 8 8	Vorhöfe stehen still in voller Diastole.	4 h 22		Höchst unregelmässig peristaltische Herzbewegungen. Zeitweilig schwache Bewegung der Vorhöfe, allmählig in dauernden Stillstand übergehend.
4 h 6	7 6 6	Vorhofstillstand andauernd.	4 h 30		Stillstand. Durchschneidung beider Vagi ohne Erfolg. Der Frosch lebt noch. Auch eine grosse Atropingabe bleibt erfolglos. Auf mechanische Reizung macht das Herz hie und da einige unregelmässige Bewegungen.
4 h 7	6 7 6	Mechanische Reizung der Vorhöfe hat eine Vermehrung d. Ventrikelschläge zur Folge.			
4 h 8	8 5 6				
4 h 9	7 6 8				
4 h 13	6 6 6	Vorhofstillstand.			
4 h 15	6 6 6	Ventrikelschlägen sehr mangelhaft und peristaltisch. Häufig längere Stillstände.			
4 h 20	6	50 Sekunden Herzstillstand.			

## Versuch III (Frosch).

Herzschlag vor der Vergiftung mehrmals gezählt (16, 17).

11 h 2	2 gutt. Digitalinlösung in den Lymphsack injiziert.	11 h 39	16	Das Aneurysma der Herzspitze hat sich allmählig wieder verloren.
11 h 3	17 17 17	11 h 43	14 15 14	
11 h 6	17 17 17			
11 h 7	18 17 17			
11 h 8	18 17 18			
11 h 9	18 18 17	11 h 45	14	Injection eines Tropfens einer 1% Lösung von Muscarin. sulfuric.
11 h 10	18 17 18	11 h 49	14	
11 h 11	18 18 17	11 h 53		
11 h 12	19 17 18			
11 h 13	18 18 17	11 h 55		
11 h 14	18 18 17			Allgemeiner Herzstillstand, der einige Minuten später durch eine Spur von schwefelsaurem Atropin wieder aufgehoben wurde. Die Bewegungen des Herzens, die dann eintreten, waren ebenso peristaltisch, wie vor der Muscarin Vergiftung.
11 h 16	18 18 18			
11 h 17	18 18 18			
11 h 23	18 18 18			
11 h 30	18			

 Tafel 1: Versuchsprotokolle von R. BOEHM  
 Aus: R. BOEHM (12) S. 176, 177

tretenden Änderungen der verschiedenen Qualitäten des Herzschlages (Verkürzung der Diastole, Intensivierung der Systole, Zunahme der Füllung der Vorhöfe etc.) und der Frequenz wurde festgehalten.

Bemerkenswert sind die tabellarischen Versuchsprotokolle, die BOEHM angefertigt hat. Hier wird vergleichsweise übersichtlich die Änderung der Herzfrequenz neben besonderen Beobachtungen bis zum Herzstillstand notiert (40) (Tafel 1).

Diese Versuche wurden mit unterschiedlicher Dosierung sowie unter gleichzeitiger Applikation von anderen Giften wie Curare, Atropin, Muscarin u. a., daneben auch nach Durchtrennung der Nn. vagi oder des Rückenmarks wiederholt.

Andere Untersuchungen galten der Änderung des Blutdruckes unter Digitaliseinwirkung. Hierzu wurde in der linken Aorta eine Glaskanüle fixiert, welche an ein Quecksilbermanometer in Verbindung mit einem Kymographion gekoppelt war.

Außerdem machte BOEHM Blutdruckmessungen an Säugetieren (Hund, Kaninchen, Katze). Hierbei fertigte er Pulskurven an, die mit Hilfe des Fickschen Federmanometers z.B. an der Carotis des Hundes abgeleitet wurden (41). Die Applikation des Digitalin geschah dabei intravenös über die V. jugularis.

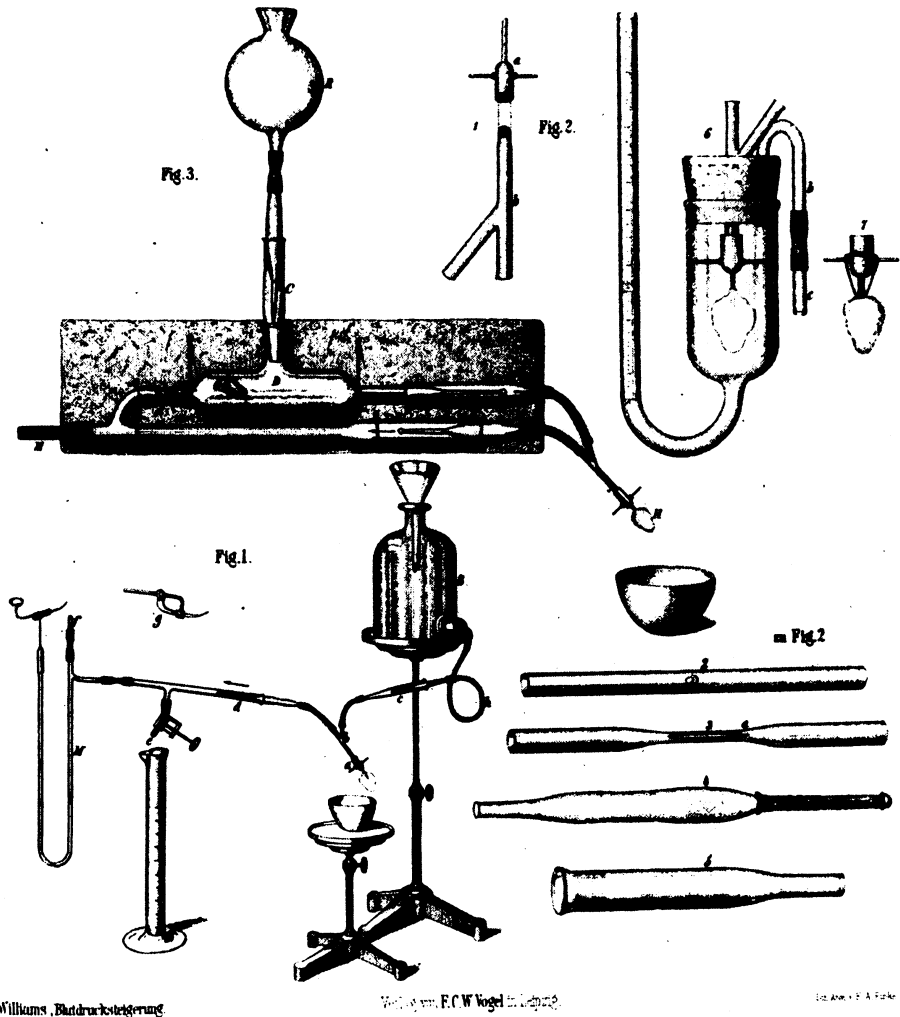
Ähnliche Versuchsanordnungen wurden später auch zur Wertbestimmung von Digitalispräparaten eingesetzt.

Auch JOSEPH FRANCOIS BENJAMIN POLAILLON und C. CARVILLE in Paris benutzten den Frosch und daneben auch Säugetiere (Kaninchen und Hunde). Ihre Untersuchungen galten dem Pfeilgift „Inee“, also dem Strophanthin, dessen Wirkung auf Nerven, Muskeln und das Herz nach subkutaner, oraler und intramuskulärer Applikation geprüft wurde. Die Ergebnisse wurden 1872 veröffentlicht (42).

Einer der ersten Untersucher, die mit dem isolierten Froschherzen gearbeitet haben, war FRANCIS WILLIAMS in Strassburg. Seine 1880 veröffentlichten Versuche galten vor allem der Wirkung der untersuchten Substanz Digitalin auf die Gefäße (43).

Tafel 2 zeigt eine Abbildung des später nach dem Erstbeschreiber benannten „WILLIAMSSchen Apparates“, die seiner Publikation entnommen ist (44). Dieser Apparat fand mit einigen Variationen weite Verbreitung für Pulskur-

venschreibungen am isolierten Froschherzen. Mit der Feder 'g' in Fig.1 der Tafel 2 wurden die Druckschwankungen aufgezeichnet.



Williams, Blutdrucksteigerung

Verf. von F.C.W. Vogel in Leipzig.

Druck von P. A. Scherl in Leipzig.

Tafel 2: Der WILLIAMSSche Apparat  
Aus: F. WILLIAMS (188)



### 2.1.2.2 Versuche mit Warmblütern

Schon bei den oben beschriebenen Versuchen von SCHIEMANN (1786), ORFILA (1818) und BLAKE (1839) waren Säugetiere benutzt worden, nämlich Hunde. Aber nicht nur Hunde dienten als Versuchstiere.

HERMANN FRIEDRICH S. STANNIUS in Rostock fand um 1850, daß das Gift bei Katzen auf das Herz wirkt und einen lähmenden und tötenden Einfluß hierauf hat (45). Er stellte sich dann die Frage, ob die Wirkung über die *M. oblongata* oder die *Nn. vagi* vermittelt werde und durchtrennte deshalb bei mehreren Versuchen diese Nerven. In gleicher Weise wurden bei anderen Versuchen die Halsstränge des Sympathicus allein oder zusammen mit den Vagusnerven durchschnitten.

STANNIUS hat seine Experimente detailliert beschrieben. Die Tiere wurden allerdings nicht gewogen, es wurde auch nicht zwischen männlichen und weiblichen Versuchstieren unterschieden, das Alter nur ungefähr angegeben. STANNIUS bemühte sich dann aber, sämtliche Veränderungen an den injizierten Tieren genau aufzuschreiben und maß zeitweise auch Puls und Atemfrequenz. Nach dem Tod der Tiere wurden sie thorakotomiert und Zustand und elektrische Erregbarkeit des Herzens untersucht. Teilweise wurden die Versuchsabläufe tabellarisch wiedergegeben (46).

Bei der Diskussion der Ergebnisse ging STANNIUS besonders auf die Beobachtungen am Herzen ein und kam zu dem Ergebnis, daß *Digitalis* nicht über die Nerven oder die *M. oblongata* auf das Herz wirkt, sondern direkt auf das Organ.

Beim Vergleich der Versuchstiere machte STANNIUS die Entdeckung, daß Kaninchen offensichtlich wesentlich weniger empfindlich gegen die Giftwirkung der *Digitalis* waren als Katzen. Die bei Katzen regelmäßig auftretende Herzlähmung konnte er bei Kaninchen nicht finden. STANNIUS schloß daraus auf eine grundsätzliche Verschiedenheit in der Reaktion auf *Digitalis* bei fleischfressenden und pflanzenfressenden Säugetieren. Auch bei Vögeln (Hühner, Tauben, Krähen, Eulen) glaubte STANNIUS einen entsprechenden Unterschied feststellen zu können: Eule und Krähe erlagen dem Gift früher als die Tauben. Diese Unterschiede in der Empfindlichkeit der Individuen gelten bis heute als einer der großen Nachteile der Wertbestimmung von *Digitalis*präparaten mit Hilfe biologischer Auswertungsmethoden (47).

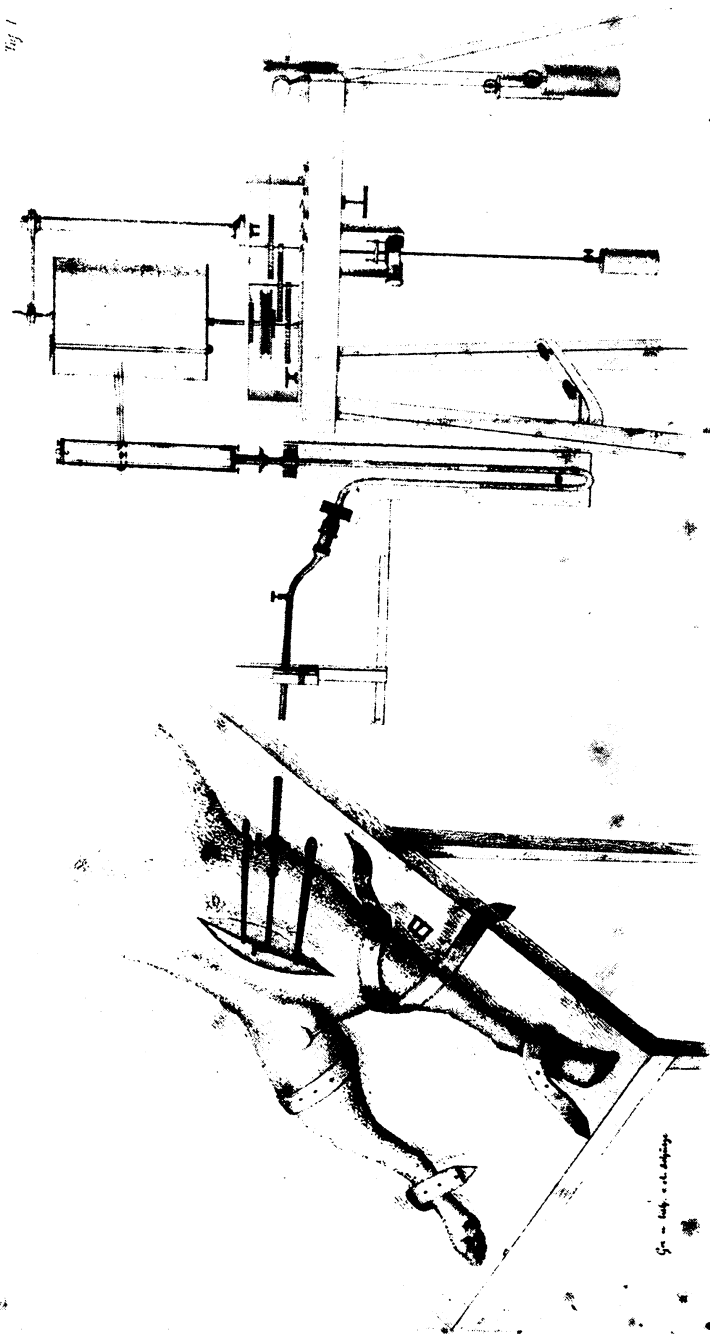
LUDWIG TRAUBE veröffentlichte 1871 seine gesammelten Beiträge, deren erste Abteilung eine Anzahl von Mitteilungen aus seinen Arbeiten bezüglich der Regulation der Herzaktion sowie der Wirkung der *Digitalis* enthält (48).

Was die Regulation der Herzarbeit betrifft, war TRAUBE Anhänger der Theorien von Ed.WEBER, C. LUDWIG und A. VOLKMANN. Diese besagte, daß das Herz zwei funktionell verschiedene Nervensysteme besitzt, und zwar eines, welches die Kontraktionen des Herzmuskels vermittelt („das musculomotorische“), und ein anderes, welches die Herzaktion hemmen kann („das regulatorische“). Das Zentrum des motorischen Herznervensystems wurde dabei im Herzen selbst vermutet, während das regulatorische Herznervensystem in der M. oblongata liegen sollte. Die Fasern des regulatorischen Nervensystems wurden den Nn. vagi zugeordnet. In seiner im Jahre 1851 in den Charité-Annalen veröffentlichten Mitteilung (49) über seine Versuche zur Wirkung der Digitalis kam TRAUBE zu dem Schluß, daß die Digitalis auf das regulatorische Herznervensystem wirkt. Die Pulsverlangsamung nach Digitalisgabe wurde dabei als Reizung der Nn. vagi gedeutet, die bei höheren Dosen auftretende pulsvermehrnde Wirkung dagegen als Lähmung der Nn. vagi.

Mit dieser Auffassung, daß die Digitalis auf dem Umweg über die Nervenversorgung auf das Herz wirkte, befand sich TRAUBE im Widerspruch zu STANNIUS, welcher eher eine Wirkung direkt auf das Herz annahm (50).

TRAUBES Versuchstiere waren Hunde; bei der Versuchsbeschreibung wurden zum Teil das Alter und die rektal gemessene Temperatur festgehalten. Die Substanz wurde intravenös appliziert, wobei kein besonderes Dosierungsschema eingehalten wurde. Nahezu minütlich wurde die Pulsfrequenz gemessen, außerdem bei einigen Versuchen die Atemfrequenz in unbestimmten Abständen; zusätzlich wurden Bemerkungen über das Verhalten der Versuchstiere bzw. zusätzliche Einspritzungen von Digitalisinfus gemacht. Eröffnung des Thorax und Inspektion des Herzens wurden nicht konsequent durchgeführt. Ganz offensichtlich war TRAUBES Hauptanliegen der Verlauf der Pulskurve. Einzelne Versuche wurden auch mit durchschnittenen Nn. vagi durchgeführt.

Zur Aufzeichnung der Pulskurve hatte sich TRAUBE seit 1851 des von VOLKMANN modifizierten LUDWIGschen Kymographion bedient. Sehr bald waren ihm an diesem Apparat Mängel aufgefallen, welche er zu beheben bestrebt war. Dies gelang ihm mit Hilfe der Mechaniker MARTINS und SAUERWALD, und im Jahre 1864 verfaßte er die „Beschreibung eines verbesserten Kymographions sowie der zu dem Gelingen eines kymographischen Versuches notwendigen Vorbereitungen.“ Hier gab TRAUBE eine exakte Beschreibung des von ihm modifizierten Kymographen, welcher im wesentlichen aus drei Teilen bestand: 1. einer von einem Uhrwerk getriebenen Trommel, welche das zum Aufzeichnen der Pulskurve verwendete Papier trug, 2. einem Manometer mit Schwimmer, welcher über Pinsel und Pulskurve schrieb und 3. einem Röhrensystem, welches Manometer und Arterie verband (Tafel 3) (51).



**Tafel 3: Die Versuchsanordnung von L. TRAUBE**  
Aus: L. TRAUBE (180)

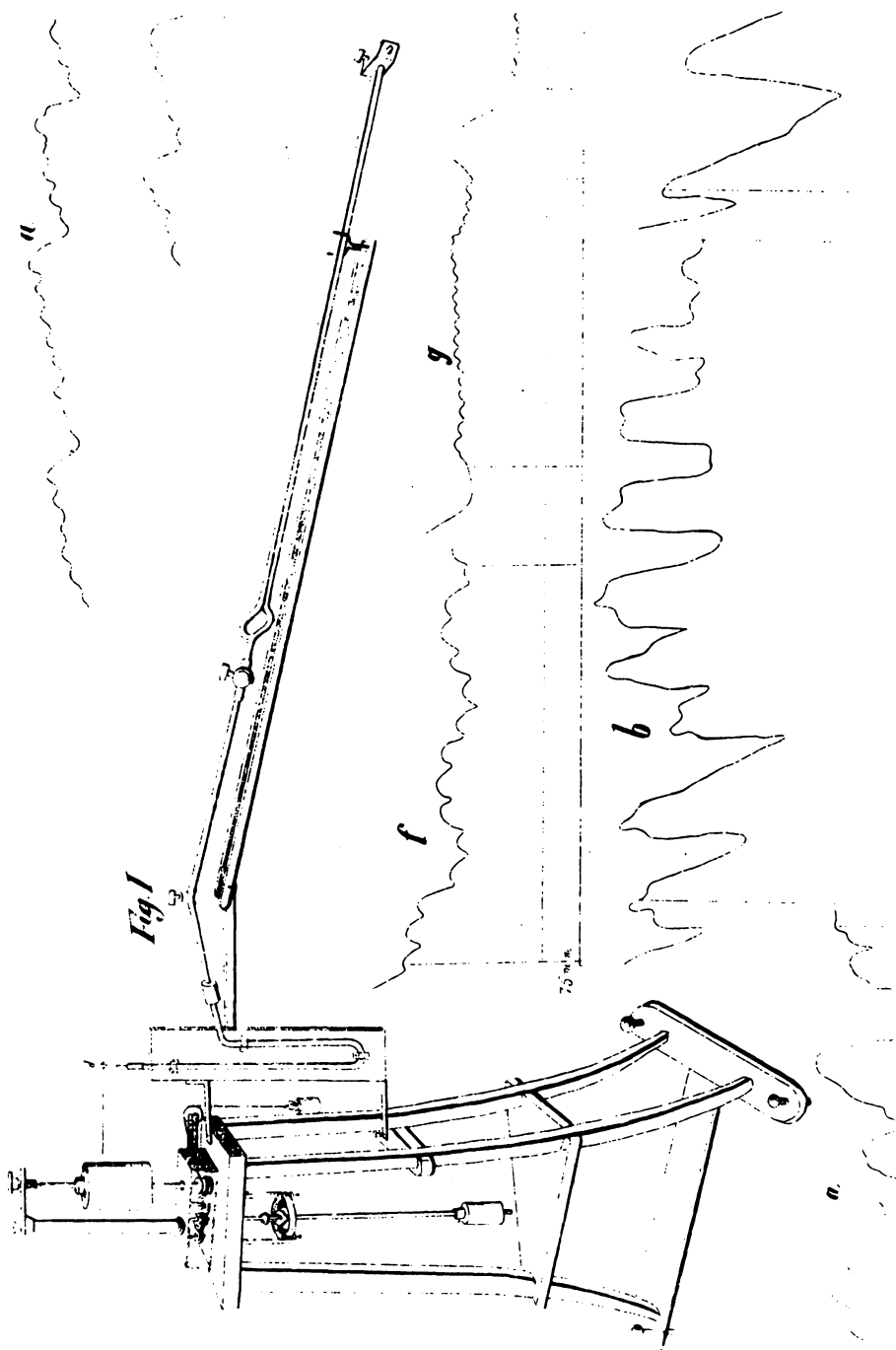
Ein weiterer im Jahr 1864 geschriebener Aufsatz befaßte sich mit der Frage der Methodik bei der Injektion der zu prüfenden Stoffe: „Einige Bemerkungen über die zweckmäßigste Art der Injektion solcher Stoffe, deren Wirkungsweise mittels des Kymographion geprüft werden soll.“ (52)

ERNST LENZ in Dorpat beschrieb 1853 in seiner Dissertation Experimente mit Hunden, die zur Erforschung der Wirkung von Digitalis purpurea beitragen sollten (53). Nach intraarterieller und intravenöser Injektion wurden die Pulsfrequenz, der Druck und die Fließgeschwindigkeit gemessen. Tafel 4 zeigt den VOLKMANNschen Apparat, den LENZ für seine Messungen benutzt hat.

LAUDER T. BRUNTON und ADOLPH BERNHARD MEYER führten in Berlin 1868 ebenfalls mit dem Hund ähnliche Untersuchungen durch (54). Nach intraarterieller Injektion in die A. carotis wurden Blutdruck und Puls gemessen. Ziel der Untersuchungen war insbesondere die Erforschung des Einflusses von Digitalin auf die Blutgefäße. MEYER und BRUNTON verwendeten dabei den nach TRAUBE modifizierten LUDWIGSchen Kymographen.

Im Jahre 1871 veröffentlichte THEODOR ACKERMANN seine Versuche, die er 1866 nach der TRAUBEschen Methode mit Hilfe eines von SAUERWALD angefertigten Kymographen durchgeführt hatte (55). Nach intravenöser Injektion von Digitalin in die Jugularvene von Hunden wurde die Wirkung auf die Temperatur, die Pulsfrequenz und den Blutdruck studiert.

Auch RUDOLF BOEHM hat um 1872 Experimente zur Wirkungserforschung der Digitalis außer mit dem Frosch auch mit Kaninchen, Katzen und Hunden durchgeführt (56).



Tafel 4: Der VOLKMANNsche Apparat  
Aus: LENZ (119)

### **2.1.3 Versuche, die dem qualitativen oder quantitativen Vergleich verschiedener Zubereitungen dienten**

Die im folgenden erwähnten Versuchsanordnungen dienten nicht oder nicht nur der reinen Erforschung der Digitaliswirkung, sondern hier ging es bereits um die Feststellung von qualitativen oder quantitativen Unterschieden verschiedener Substanzen oder Zubereitungen. Die Methoden fußten aber vielfach auf denen, die zur Wirkungserforschung entwickelt worden waren, sie sind andererseits die direkten Vorläufer der Wertbestimmungsmethoden des ausgehenden 19. Jahrhunderts.

#### **2.1.3.1 Methoden zum Wirkungsvergleich an Kaltblütern**

Derartige Versuche wurden in größerem Umfang mit der Digitalis erstmals um 1860 von W. DYBKOWSKY und E. PELICAN durchgeführt (57). Sie beschäftigten sich mit der Suche nach einer Substanz, welche – im Gegensatz zum Curare – das Herz eher als die quergestreiften Muskeln lähmen sollte. In diesem Zusammenhang hatten sie bereits 1857 festgestellt, daß das Upas antiar seine lähmende Wirkung auf das Herz des Frosches auch nach vorangehender Zerstörung des verlängerten Markes ausübte, d.h., daß das Upas antiar direkt auf das Herz wirkte. Dieselben Resultate ergaben sich bei Versuchen mit Tanghinia venenifera. Zu klären blieb noch, ob diese Substanzen ihre Wirkung an den Nerven oder am Muskel ausübten. Bei den dazu angestellten Versuchen wurden das Digitalin sowie die grüne Nießwurz miteinbezogen. Die Versuchstiere waren Frösche, in wenigen Fällen auch Säugetiere. Upas antiar, Extrakt aus Tanghinia und grüner Nießwurz wurden in Mengen von 0,01 - 0,02 g verwendet, Digitalin in Mengen von 0,05 - 0,01 g.

DYBKOWSKY und PELICAN wiesen bereits auf die Bedeutung der Jahreszeit bei der Verwendung von Fröschen als Versuchstieren hin und bemerkten, daß die Zeit, in welcher sie ihre Experimente anstellten, nämlich vom September bis zum Januar, keine günstige war, „da die Frösche in dieser Epoche das Minimum ihrer Reizbarkeit zeigen“ (58), glaubten jedoch andererseits, daß diese Tatsache ihre Untersuchungsergebnisse nicht entscheidend beeinflusste (59).

Mit Fröschen wurden drei Arten von Experimenten durchgeführt:

- a) Orale oder subkutane Applikation der Substanzen nach Freilegung des Herzens.
- b) Vorheriges Durchschneiden der Nn. vagi bzw. Zerstörung des verlängerten Marks.
- c) Applikation von galvanischem Strom auf die Nn. vagi während der Vergiftung.

Die Anzahl der verwendeten Tiere sowie die Gesamtzahl der durchgeführten Versuche wurden von DYBKOWSKY und PELICAN nicht mitgeteilt.

Ein wichtiges Untersuchungsergebnis war, „daß alle diese Gifte auf das Herz eine analoge Wirkung ausüben und der einzige Unterschied nur in einer verschiedenen Wirkungskraft besteht.“ (60). Digitalin wurde hier also sowohl hinsichtlich seiner qualitativen, wie auch seiner quantitativen Wirkung zu anderen Substanzen verglichen. Das Kräfteverhältnis von Digitalin zu den anderen geprüften Substanzen wurde auch in Zahlen ausgedrückt: „Die mittlere Dauer der Herzkontraktionen nach der Einführung des Giftes waren 5 - 10 Minuten beim Gebrauche des Antiar, der Tanghinia und der grünen Nießwurz, beim Gebrauche des Digitalins 10 -20 Minuten . Drücken wir also das Maximum ihrer Wirkung durch 100 aus, so verhalten sich die Gifte in folgender Reihenfolge:

1. Das Upas antiar = 100.
2. Das alkoholische Extrakt der Tanghinia venenifera = 75.
3. Das alkoholische Extrakt der grünen Nießwurz = 50.
4. Das Digitalin = 25.“ (61).

Dies ist eine der ersten Wirksamkeitsskalen, die mit Hilfe einer biologischen Wertbestimmung erstellt wurde.

Auch DYBKOWSKY und PELICAN stellten fest, daß der Herzventrikel nach Digitalisvergiftung stets im Zustande der Kontraktion stehen blieb. Ein wesentliches Untersuchungsergebnis war ferner, daß alle das Herz lähmenden Gifte ohne Vermittlung des Gehirns und des Rückenmarks wirkten, ein Ergebnis, welches im Widerspruch zu den Untersuchungen TRAUBEs und im Einklang mit denen von STANNIUS stand. Dieselben Ergebnisse erhielten die Untersucher bei Experimenten an Kaninchen und Hunden.

Bemerkenswert ist, daß DYBKOWSKY und PELICAN zum Teil versuchten, von den gewonnenen Ergebnissen ausgehend einen direkten Bezug für die ärztliche Praxis herzustellen: „Überhaupt wirkt das Digitalin viel schwächer als die drei anderen Gifte, was schon aus den größeren Dosen hervorgeht, die zur vollkommenen Lähmung erforderlich sind und die diejenigen der übrigen um das 2-, ja 3fache übersteigen. Diese Bemerkungen können Ärzten als Leitfaden dienen, die das Upas antiar, die grüne Nießwurz oder die Tanghinia in Herzkrankheiten, in welchen man so oft seine Zuflucht zum Fingerhutkraut nimmt, anwenden wollen“ (62).

Im übrigen wurden auch Untersuchungen über die Wirkung der Gifte auf die Muskulatur durchgeführt, welche in unserem Zusammenhang jedoch von untergeordnetem Interesse sind.

Vorwiegend aus toxikologischem Forschungsinteresse machte THOMAS R. FRASER seine Experimente mit Strophanthin.

Er befaßte sich seit etwa 1866 mit dem afrikanischen Pfeilgift „Kombé“ bzw. „Inée“, welches auch schon der Gegenstand der Untersuchungen von FAGGE, STEVENSON, PELICAN und anderen gewesen war (63).

Nach umfangreichen Forschungen veröffentlichte FRASER 1889 vor der königlichen Gesellschaft von Edinburgh sein sehr umfassendes Werk über die Pflanze, aus der die wirksame Substanz dieses Pfeilgiftes gewonnen wurde: *Strophanthus hispidus* (64).

Enthalten sind hier Darstellungen sowohl der Naturgeschichte dieser Pflanze, als auch der Chemie, daneben finden sich ausgezeichnete Abbildungen der afrikanischen Pfeile sowie der Pflanze selbst. Den Hauptteil der Arbeit nimmt jedoch die Darstellung der von FRASER selbst durchgeführten pharmakologischen Experimente zur Aufklärung der Pharmakodynamik der Substanz ein (65).

Neben einer enormen Anzahl von Experimenten, die in unserem Zusammenhang von geringerer Bedeutung sind, finden sich hier auch Beschreibungen von Experimenten mit Fröschen und Kaninchen, bei denen die kleinste tödliche Dosis („Minimum – Lethal Dose“) eines alkoholischen Extrakts bzw. von Strophanthin bestimmt wurde. Zur Feststellung dieser Dosis applizierte FRASER einer kleinen Gruppe von Tieren eine steigende Menge der Substanz subkutan und nannte dann diejenige Menge die kleinste tödliche Dosis, bei welcher er erstmalig den Tod eines Tieres feststellte. Die Tiere wurden gewogen und das Ergebnis in absoluten Zahlen und in Relation zum Tiergewicht angegeben. Im Falle einer Bestimmung bei Kaninchen verwendete FRASER dabei nur drei Tiere (66). Das Ergebnis wurde offensichtlich nicht überprüft. Einige seiner Versuche zur Bestimmung der kleinsten tödlichen Dosis wurden detaillierter dargestellt, wobei FRASER auch Beobachtungen wie Änderung der Atmung oder in anderer Weise besonderes Verhalten des Versuchstieres beschrieb.

Es ist klar ersichtlich, daß es FRASER hier in erster Linie um die Erforschung der Wirkung des Strophanthin ging, die Bestimmung der MLD war mehr ein Nebenprodukt seiner Arbeit. Dementsprechend erschienen dann auch breite Darstellungen der Experimente zur Erforschung der Wirkung auf zentrales Nervensystem, sensible Nerven, motorische Nerven, Skelettmuskeln, Herz- und Blutgefäße unter den verschiedensten Bedingungen. Die Versuchstiere bei all diesen Untersuchungen waren zum größten Teil Frösche, und zwar



vorwiegend von der Gattung *Rana esculenta*; daneben auch *Rana temporaria*, Kaninchen und Tauben. Mit *Rana esculenta* stellte FRASER auch kardiographische Kurven her. Verwendet wurde dabei MAREYs Kardiograph. Die Frösche wurden entmarkt, das Strophanthin direkt auf das Herz appliziert (67).

Eine besondere Serie von Versuchen galt der Feststellung der Intensität der Wirkung auf das Herz (68). FRASER verwendete hier zum Teil extrem verdünnte Lösungen des Extrakts bzw. des Strophanthin, welche nach der Methode von WILLIAMS durch das isolierte Froschherz gepumpt wurden (69). FRASER stellte steigende Verdünnungen des Extraktes her und bestimmte jeweils die Zeit, die bis zum Herzstillstand verging. Er hatte früher bereits ähnliche Bestimmungen mit anderen Herzgiften durchgeführt und verglich nun die dabei gefundenen Werte mit denen von *Strophanthus hispidus*. Er fand dabei u.a., daß der Strophanthusextrakt 30 x stärker als Convallamarin war, 300 x stärker als Digitalin, 6000 x stärker als Saponin usw. Er kam zu dem Schluß, daß Strophanthin stärker auf das Herz wirke als irgendeine andere zu seiner Zeit bekannte Substanz.

Auch hier wurden also Untersuchungen zu qualitativen und quantitativen Unterschieden in der Wirksamkeit der Substanzen durchgeführt.

In seiner Dissertation vom Jahre 1874 machte ROBERT KOPPE Wirkungsvergleiche mit Digitoxin, Digitalin und Digitalein. Das Ergebnis war, daß qualitativ alle Substanzen gleich wirkten (70).

Die Versuche mit Fröschen wurden bei bloßgelegtem Herzen „in der gewöhnlichen Weise angestellt“ (71).

Gesucht wurden die erforderliche Dosis und die Zeit bis zum Eintreten des kompletten systolischen Herzstillstandes. Hierbei fand KOPPE quantitative Unterschiede zwischen MERCKschem Digitalin und Digitoxin, aber auch Unterschiede in der Empfindlichkeit der zwei Froscharten *Rana temporaria* und *Rana esculenta*; die letztere hielt er für weniger empfindlich.

Die Versuchsergebnisse wurden in einer Tabelle wiedergegeben, in der nebeneinander aufgetragen waren: Die applizierte Substanz, die Nummer des Versuches, die Froschart, die applizierte Menge in mg., die Temperatur der Umgebung in °C, die Pulsfrequenz/min., die Zeit bis zum Eintritt der „Peristaltik“, die Zeit von der Injektion bis zum kompletten oder inkompletten Herzstillstand in Minuten sowie besondere Bemerkungen (72) (Tafel 5). Diese Tabelle erinnert schon an die späteren Versuchsprotokolle von physiologischen Wertbestimmungen, wie sie um die Jahrhundertwende zum Vergleich verschiedener Digitalispräparate angefertigt wurden.

Natur der Substanz.	No. des Versuchs.	Froschart.	Gabe in Mgm.	Temperatur der Umgebung in Graden C.	Ursprüngliche Pulsfrequenz in der Minute.	Eintritt der Peristaltik nach Minuten.	Zeit von der Injection bis zum completen Herzstillstand in Minuten.	Zeit von d. Injection bis zum incompleten Herzstillstand in Minuten.	Bemerkungen.
Digitoxin in Alkohol von 20° o.	1	R. tempor.	0,07	29°	60	10	—	20	Nach 1 Stunde kein compl. Stillstand.
	2	desgl.	0,10	29°	80	15	20	—	
	3	desgl.	0,25	27°	56	6	10	—	
	4	desgl.	0,5	27°	64	4	6	—	
	5	desgl.	0,75	27°	64	3	5	—	Nach 25 Min. kein Herzstillstand. Nach 1 Stde. kein compl. Stillstand.
	6	desgl.	1,00	27°	52	keine Peristalt.	5	—	
	7	R. escul.	0,50	29°	80	10	—	—	
	8	desgl.	1,00	29°	76	10	—	15	
	9	desgl.	1,50	29°	80	7	16	—	
Digitalin.	10	R. tempor.	0,25	25°	lebhaft Herzact.	3	—	—	Nach 40 Min. kein Herzstillstand. Kein Herzstillstand.
	11	R. escul.	0,25	25°	desgl.	7	—	—	
	12	R. tempor.	0,50	25°	desgl.	3	13	—	
	13	R. escul.	0,50	25°	desgl.	10	—	30	Nach 1 Stunde kein compl. Stillst.
	14	R. tempor.	0,33	25°	desgl.	3	12	—	
	15	R. escul.	1,00	25°	desgl.	4	—	20	
	16	desgl.	1,50	25°	desgl.	3	18	—	
Digitalein.	17	R. tempor.	0,25	18°	trägere Herzact.	5	—	10	Nach 30 Min. kein Herzstillstand.
	18	desgl.	0,25	18°	desgl.	4	15	—	
	19	desgl.	0,50	18°	desgl.	5	10	—	
	20	R. escul.	0,50	20°	desgl.	12	—	—	
	21	desgl.	1,00	20°	desgl.	—	—	20	
	22	desgl.	1,50	20°	desgl.	8	10	—	

Tafel 5: Versuchsprotokoll von R. KOPPE  
Aus: KOPPE (109) S. 277

Um Nebenwirkungen des Lösungsmittels Alkohol auszuschalten, wurde das Digitoxin auch in Substanz unter die Haut der Tiere appliziert. Hierbei fand KOPPE jedoch nicht die geringste Wirkung, was er auf die Unlöslichkeit des Digitoxin in Wasser und wässrigen Körperflüssigkeiten zurückführte (73).

In seiner Inauguraldissertation von 1875 beschrieb HENRI PERRIER aus Straßburg seine Versuche, die der Wirkungserforschung, aber auch dem Vergleich von Toxiresin und Digitaliresin dienten. Seine Versuchstiere waren neben dem Frosch (*Rana esculenta*) Katzen, Kaninchen und Hunde (74).

Die Substanzen wurden subkutan injiziert, dann wurde die Zeit bis zum Herzstillstand gemessen. Gelegentlich wurde die Versuchsanordnung variiert, wie z.B. durch Rückenmarksdurchtrennung etc.

PERRIERs Ergebnis lautete: „Das Digitaliresin wirkt qualitativ dem Toxiresin völlig gleich, quantitativ etwas schwächer als dieses“ (75).

JEAN BAPTISTE VINCENT LABORDE und H. DUQUESNEL in Paris vertraten die Auffassung, daß die chemische Reinheit eines Medikamentes die wesentliche Garantie für seine physiologische Wirkung und damit für seine therapeutische Wirksamkeit darstellt. Um dieses zu beweisen, untersuchten sie verschiedene Substanzen zunächst auf ihren chemischen Reinheitsgrad, um dann anhand von Tierversuchen den Grad der physiologischen Wirksamkeit zu prüfen (76).

Ihre Untersuchungen galten dem Digitalin „NATIVELE“, welches sie für ein in seiner Wirksamkeit und chemischen Zusammensetzung stets gleichwertiges Präparat hielten, das das Vertrauen von Arzt und Patient verdiente. Im Vergleich dazu wurde ein „deutsches Präparat“ geprüft (77), welches äußerlich dem Digitalin „NATIVELE“ völlig gleich war.

Aber bereits bei der chemischen Prüfung zeigten sich Unterschiede. Sämtliche von LABORDE und DUQUESNEL positiv erwarteten Reaktionen (mit Salzsäure, mit Chloroform etc.) zeigte lediglich das Digitalin NATIVELE, jedoch nicht das ausländische Digitalin. Der daraus gezogene Schluß, daß das französische Digitalin dem anderen überlegen sein müsse, wurde durch nachfolgende physiologische Prüfung erhärtet. Die Versuchsanordnung war dabei wie folgt:

Versuchstiere waren zwei Frösche der Gattung *Rana temporaria*, das Herz wurde freigelegt, eine genau abgewogene wässrige Lösung der zu prüfenden Substanzen wurde jeweils in die Hinterbeine injiziert. Die Injektionszeit wurde festgehalten, dann wurden beide Tiere genau beobachtet. Bereits nach zwei Minuten blieb das Herz des mit dem französischen Digitalin vergifteten Frosches stehen, der andere Frosch lebte noch am nächsten Morgen. Zur graphi-

schen Dokumentation dieses Versuchsergebnisses fertigten LABORDE und DUQUESNEL kardiographische Kurven an (78). Der gleiche Versuch wurde nach Dosissteigerung wiederholt ; das Ergebnis entsprach dem ersten.

Die Autoren faßten ihre Versuchsergebnisse mit den Worten zusammen: „Man kann aus der vorangegangenen Demonstration den Schluß ziehen, daß die physiologische Wirksamkeit des Digitalin D (NATIVELE) derjenigen des deutschen Digitalin vierfach überlegen ist, da bei einer vierfach stärkeren Dosis dieses gerade erst beginnt, irgendwelche spürbaren Effekte hervorzurufen. Aber diese Annäherung ist immer noch weit von der Realität entfernt , wenn man den Wirkungsgrad anhand der letzten und eindeutigen Effekte mißt, deren Kriterium der Herzstillstand ist“ (79).

LABORDE hat darüberhinaus eine Probe desjenigen Digitalin untersucht, welches in den Pariser Hospitälern weit verbreitet verwendet wurde (80). Hierzu veranlaßt wurde er durch den seit langem gehegten Verdacht, daß die Pariser Hospitäler minderwertige Präparate austeilten, um sich finanzielle Vorteile zu verschaffen. Zunächst unterwarf er die Substanz, wie er es auch mit den anderen Digitalinpräparaten gemacht hatte, einer chemischen Prüfung. Schon hier zeigte sich an verschiedenen Reaktionen, daß das Präparat nicht den Erwartungen entsprach, die LABORDE an ein chemisch reines Digitalinpräparat stellte.

Größere Bedeutung maß er jedoch der physiologischen Prüfung bei, welche sich der chemischen anschloß: Das Herz eines Frosches wurde freigelegt, eine bestimmte Menge des Präparates in die hintere Extremität appliziert. Diese Menge entsprach genau der, die auch bei der Prüfung der anderen Substanzen verwendet worden war. Nun wurde der systolische Herzstillstand des Froschherzens abgewartet, bzw. eine kardiographische Methode angewendet, um den Verlauf bis zum Herzstillstand noch genauer darzustellen. LABORDE hat die Anzahl der von ihm verwendeten Frösche nicht mitgeteilt. Jedoch geht aus einem an anderer Stelle erwähnten Versuch mit Meerschweinchen (81) hervor, daß er offensichtlich bereits ein an einem einzigen Tier festgestelltes Untersuchungsergebnis für aussagekräftig hielt. Bei Fröschen fand LABORDE mit dem Präparat aus den Hospitälern einen Herzstillstand erst nach 18 - 20 Stunden, während er im Falle des „chemisch reinen Digitalin“ den Herzstillstand nach weniger als 5 Minuten gesehen hatte. Dementsprechend schloß LABORDE aus diesem Froschversuch, daß das in den Pariser Hospitälern verwendete Präparat nicht chemisch rein und deshalb nicht voll wirksam war.

1888 verglich E. GLEY in Frankreich das Ouabain mit dem Strophanthin (82). Zu seinen Versuchen , die er zusammen mit M.P. RONDEAU am Ouabain und mit Prof. G. SEE am Strophanthin durchgeführt hat, schrieb er :

„Einer der charakteristischsten Effekte des Ouabain und des Strophanthin besteht in der Wirkung dieser Substanzen auf das Froschherz, die absolut die gleiche ist: diese Wirkung – schneller Stillstand des Herzens in Systole – ist so speziell und so stark, daß es zweifellos unendlich kleine Dosen brauchte, damit sie nicht eintritt. Nach einer subkutanen Injektion von 1/40 Milligramm kristallisiertem Ouabain bleibt das Herz nach 6 Minuten stehen; unter dem Einfluß der gleichen Dosis kristallisierten Strophanthins braucht es ungefähr 12 Minuten, um stehenzubleiben; nach der Injektion von 1/80 Milligramm Ouabain habe ich diesen systolischen Stillstand immer noch nach 8 oder 9 Minuten eintreten sehen“ (83).

G. BARDET in Paris widmete sich besonders der unterschiedlichen Pharmakodynamik der verschiedenen Digitalispräparate, die zu seiner Zeit auf dem Markt waren (84). Eines seiner Anliegen war dabei auch die Klärung der nomenklatorischen Verwirrung, welche bei den Digitalispräparaten herrschte, weshalb er zunächst die einzelnen Substanzen (Digitalin, Digitalein, Digitoxin etc.) definierte und dann erst experimentell miteinander verglich. Er verwendete das kristallisierte Digitalin, das amorphe Digitalin, das Digitoxin, das Digitalein, das deutsche Digitalin und das in den Hospitälern verkaufte Digitalin.

Wie BARDET ausdrücklich hervorhob, ging es ihm bei seinen Experimenten, die 1889 veröffentlicht wurden, lediglich um die Bestimmung der kleinsten tödlichen Dosis jeder einzelnen Substanz. Seine Versuchstiere waren Frösche und Kaninchen. Mit den Fröschen machte BARDET 10 Untersuchungsserien mit je 15 Einzelexperimenten, mit den Kaninchen 4 Serien mit 5 Experimenten. Die Resultate waren in allen Punkten übereinstimmend.

Appliziert wurden die in Wasser oder Alkohol aufgelösten Substanzen durch subkutane Injektion. Bedeutsam ist, daß BARDET auch Kontrollreihen mit reinem Alkohol durchführte, „um mich nicht von Phänomenen täuschen zu lassen, welche den Lösungsmitteln zuzuschreiben sind“ (85).

Hierbei fand er, daß die Wirkung des Alkohols vernachlässigbar sei.

BARDET beobachtete nur den Eintritt des Todes seiner Versuchstiere, während Nebenerscheinungen nicht beachtet wurden. Auch der Zeitpunkt des Eintrittes des Todes wurde nicht gesondert hervorgehoben. BARDET gab lediglich an, daß der Tod im allgemeinen nach sehr langer Zeit eintrat, nämlich nach ungefähr 24 - 48 Stunden. Dabei stieß er auf Schwierigkeiten in den Versuchen mit dem kristallisierten Digitalin, welches bei subkutaner Injektion sehr schwer resorbiert wurde.

Mitgeteilt wurden von BARDET nicht die einzelnen Versuchsprotokolle, auch nicht die rechnerischen Vorgänge, welche zu dem Endergebnis geführt hatten,

sondern lediglich das Endergebnis selbst. Und zwar wurde die tödliche Dosis zum Teil in absoluten Werten angegeben, zum Teil jedoch auch umgerechnet auf Milligramm pro Kilogramm Tiergewicht. Mit amorphem Digitalin führte BARDET auch Umrechnungen in kristallines Digitalin durch (X Gewichtseinheiten amorphes Digitalin entsprechen Y Gewichtsanteilen kristallinem Digitalin) (86).

Ähnliche Versuche hat auch BARDETs Mitarbeiter J. FOUQUET durchgeführt, mit dem er auch an Kaninchen gearbeitet hat (87).

Die in der Inauguraldissertation von 1889 dargelegten Untersuchungen von HANS REUSING wurden an der Universität Würzburg unter Prof. KUNKEL zur Prüfung der Frage durchgeführt, ob das Strophanthin als Ersatz für Digitalispräparate eingesetzt werden kann (88). REUSING übernahm für diese Prüfungen einmal die Versuchsanordnung nach BOEHM mit subkutaner Injektion und Freilegung des Herzmuskels ohne Verletzung des Perikards sowie zur Untersuchung der Arbeitsleistung des Herzens auch das LUDWIG-COATSsche Herzpräparat.

Gemessen wurde am ganzen Frosch jeweils die Zeit bis zum Eintritt des systolischen Herzstillstandes. Daneben wurde auch jeweils der Vergiftungsverlauf im einzelnen beobachtet und beschrieben. Beim Vergleich der Wirkung nach subkutaner Injektion von Strophanthin und Digitalin fand REUSING, „daß die Wirkung des Strophanthin der der Digitalis in jeder Weise ähnelt, sie jedoch an Intensität bedeutend übertrifft. Wollte man einen allgemeinen Ausdruck finden für die Mengen, die von beiden Giften etwa gleiche Einwirkungen hervorbringen, so könnte man sagen, daß das Strophanthin ungefähr 20 mal stärker den Herzmuskel beeinflusst, wie das Digitalin (von MERCK !)” (89).

REUSINGs Schlußfolgerung bezüglich der therapeutischen Verwendung von Strophanthin war, „daß das Strophanthin als passendes Ersatzmittel für die Digitalis nicht angewendet werden kann. Es tritt zu rasch eine deletäre Wirkung ein” (90). Eine endgültige Beantwortung dieser Frage hielt er jedoch nur durch Versuche am Menschen selbst für möglich.

MATHILDE PIOTROWSKA in Genf untersuchte 1896 unter der Leitung von Prof. PREVOST, der sich bereits seit 20 Jahren mit der Pharmakologie des Digitalin befaßt hatte (91), die Folgen unterschiedlicher Applikationsweise (92). Es war bereits bekannt, daß die meisten Mittel nach subkutaner Injektion wesentlich schneller wirkten als nach oraler Gabe. M. PIOTROWSKA wollte jedoch ausfindig machen, ob die Applikationsweise auch einen Einfluß auf die Intensität der Wirkung haben könnte. Sollte sich ein deutlicher Unterschied im Wirkungsgrad bei subkutaner, intravenöser und enteraler Gabe herausstel-

len, so hätte dies erhebliche Konsequenzen für die Dosierung der Substanzen beim Menschen je nach Applikationsweise.

Trotz des im Titel ihrer Arbeit angekündigten Vergleichs mit der intravenösen Applikation wurden streng genommen nur subkutane und gastrointestinale Anwendung miteinander verglichen, während die Versuche mit intravenöser Injektion bei Katzen und Kaninchen nach Exstirpation der Leber anderen Zielen dienten.

Die von PIOTROWSKA untersuchten Substanzen waren u.a. : Das Digitalin von HOMOLLE und QUEVENNE, das Digitalin „NATIVELE“ und Strophanthin. Als Versuchstiere dienten vorwiegend der Frosch (*Rana temporaria*), daneben Kaninchen und Katzen. Die Versuche bestanden in der Bestimmung der kleinsten tödlichen Dosis, welche in Absolutzahlen sowie in Milligramm pro 100 g Tiergewicht angegeben wurde. Benötigt wurden meist ca. 10, gelegentlich jedoch auch nur ein oder zwei Tiere. Bei den Versuchen mit dem Digitalin „NATIVELE“ fand M. PIOTROWSKA, daß der als Lösungsmittel erforderliche Alkohol die Toxizität der Substanz beim Frosch erhöhte.

Die Untersucherin ist sich wohl darüber im klaren gewesen, daß die Anzahl ihrer Versuche zur Bestimmung der kleinsten tödlichen Dosis in Einzelfällen zu niedrig lag, denn sie bedauerte, nicht mehr Versuche durchgeführt haben zu können, um eine exaktere Annäherung an die wirklich kleinste Dosis zu erreichen (93).

In diesem Fall diene also die Bestimmung der MLD (kleinste tödliche Dosis) nicht der Unterscheidung verschiedener Substanzen, sondern verschiedener Applikationsweisen (94).

P.G.BRONDGEEST in Utrecht machte im Jahre 1903 am isolierten Froschherzen qualitative und quantitative Vergleiche zwischen dem Dialysatum *Digitalis grandiflorae* (Golaz), dem Digitalin und dem Digitalisinfus (95 ). Er wählte dazu die WILLIAMSSche Durchströmungsmethode in Kombination mit der Suspensionsmethode, wobei als Durchströmungsflüssigkeit RINGER-Lösung benutzt wurde (96). Die Wirkung der verabreichten Substanzen wurde an den übereinander aufgezeichneten Pulscurven sowie der Zeit bis zum Herzstillstand abgelesen. Zur Anwendung kamen jeweils 5 verschieden stark konzentrierte Lösungen der zu untersuchenden Substanz in RINGER-Lösung.

Zur Kontrolle wurde auch ein Versuch mit einfacher RINGER-Lösung durchgeführt: „Keine der *Digitalis* ähnliche Wirkung war zu beobachten. Es ist ein langsamer Herztod mit fortwährend schwächerer Systole oder Diastole“ (97).

Die zusammenfassende Beurteilung, die BRONDGEEST abgibt, zeigt einerseits, daß er sich der Bedeutung der klinischen Erprobung bewußt war, an-

dererseits aber festes Vertrauen in die Forschherzmethode beim Vergleich zweier Medikamente hatte:

„Aus meinen Versuchen ergibt sich, daß das Dialysatum Digitalis grandiflorae Golaz ganz ähnlich wirkt wie die Digitalisblätter und das Digitalinum germanicum purum Merck. Nur Erfahrungen am Krankenbett sind imstande, über seinen Wert bei Herzkranken zu entscheiden. Das aber steht fest, wie es sich aus unseren pharmakologischen Untersuchungen ergibt, daß es ein sehr wirksames Präparat ist, welches eine sehr genaue Dosierung erlaubt und in nicht zu großen Gaben eine regelmäßig typische Digitaliswirkung zeigt“ (98).



### 2.1.3.2 Wirkungsvergleich an Warmblütern

Die meisten Untersucher, die den Wirkungsgrad ihrer Substanzen an Fröschen untersucht haben, verwendeten auch Warmblüter. Meist lag jedoch das Scherwergewicht auf den Versuchen mit Fröschen, wie bei DYBKOWSKY und PELICAN, FRASER, KOPPE, GLEY, BARDET und anderen.

Deutlich weniger Untersucher befaßten sich vorwiegend mit Warmblütern.

So hat ROBERT KOPPE auch Versuche mit Hunden, Katzen und Kaninchen sowie einen Selbstversuch durchgeführt (99).

Bei den Hundeversuchen ging KOPPE so vor, daß nach Auswahl eines Tieres mittlerer Größe (5 - 10 kg) subkutane Injektion oder Applikation in den Magen nach vorangegangener Pulsmessung erfolgte. Der zeitliche Ablauf der Vergiftungserscheinungen wurde daraufhin notiert. In dieser Weise finden wir Beschreibungen von 8 Versuchen mit Digitoxin, welches in 50%igem Alkohol gelöst war. Die Dosierung wurde ausgehend von 2 mg, was als minimale Erbrechen auslösende Dosis angesehen wurde, bis 15 mg gesteigert, wonach das Tier starb. Nur je zwei Versuche wurden mit Digitalin und Digitalein durchgeführt.

Das Ergebnis war: „Ohne nähere Angaben der wirksamen Dosis bei meinen in dieser Beziehung spärlich angestellten Versuchen machen zu können, geht aus denselben doch ohne weiteres hervor, daß bei den beiden fraglichen Substanzen die 6 - 10fache Menge erforderlich sein dürfte, um einen gleichen Effekt zu erzielen, wie durch das Digitoxin“ (100).

Mit der Katze wurden 8 Versuche in gleicher Weise durchgeführt, das Ergebnis war dasselbe. Ebenso verliefen 6 Versuche mit Kaninchen.

Von besonderem Interesse ist ein von KOPPE durchgeführter Selbstversuch. Dieses Experiment wurde im Hinblick auf eine eventuelle therapeutische Verwendung des Digitoxins durchgeführt. Insbesondere sollte das Minimum der wirksamen Gabe beim Menschen festgestellt werden, um zu prüfen, ob sich das am Tier gesehene Ergebnis auch am Menschen zeigte. Dabei führte „die unerwartet heftige Wirkung der Substanz zu einer stärkeren Intoxikation, als ursprünglich beabsichtigt worden war“ (101), so daß die Aufzeichnung der Beobachtungen von Dritten durchgeführt werden mußte (102). Auch bei diesem Versuch wurden die Dosen langsam gesteigert. Zweimal wurde eine Pulskurve geschrieben.

Zur Frage der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Tiere schrieb KOPPE: „Für das Digitoxin, über welches in dieser Hinsicht ein annähernd sicheres Ur-

teil gefällt werden kann, gestaltet sich die Empfänglichkeit bei den einzelnen Tierarten verschieden. Die Letaldose beträgt annähernd: Für 1 kg Katze 0,4 mg, für 1 kg Hund 1,7 mg und für 1 kg Kaninchen 3,5 mg. ... Nach dem mitgeteilten Selbstversuche würde dem Menschen eine größere Empfänglichkeit zukommen, als selbst der Katze" (103).

Bezüglich der Frage nach der therapeutischen Anwendbarkeit der Träger der Digitaliswirkung hatte KOPPE eine pessimistische Einstellung: Digitoxin wäre wegen seiner großen Wirksamkeit und einfachen Reindarstellung am geeignetsten, wenn es nicht unlöslich in Wasser wäre und zu leicht Erbrechen hervorrufen würde. Bei den beiden anderen Substanzen war wieder die Reindarstellung zu schwierig.

„Die therapeutische Anwendung der im Handel vorkommenden, löslichen Digitalisarten empfiehlt sich aber ebenfalls nicht, weil der Gehalt dieser Präparate an wirksamer Substanz ein überaus schwankender, in keinem Fall genau zu bestimmender ist, was selbstverständlich jede Dosierung der differenten Substanzen unmöglich macht" (104).

Damit äußerte sich KOPPE nicht sehr hoffnungsvoll zu einem typischen Problem der Digitalisdosierbarkeit seiner Zeit und lieferte doch gleichzeitig durch seine Versuchsanordnung konkrete Ansätze zu einer „physiologischen Wertbestimmung", mit welcher man später versuchte, eben dieses Problem der Dosierung zu lösen.

ALBERT FRAENKEL veröffentlichte 1880 seine an der Berliner Charité angestellten Experimente, bei denen an Hunden die Wirksamkeit verschiedener Digitalispräparate qualitativ und teilweise quantitativ verglichen wurde (105). FRAENKEL ging von der modernen Vorstellung aus, daß es für den therapeutischen Einsatz günstiger wäre, von der Digitalispflanze durch Einwirkung lösender Agenzien Extrakte zu gewinnen, die dann von einigermaßen konstantem Gehalt an spezifischen Bestandteilen wären und sich im Vergleich zu den Blättern durch intensivere und zuverlässigere Wirkung auszeichneten. Er hatte sich die Aufgabe gestellt, den alkoholischen Extrakt – also die Tinktur – sowie den Essigauszug – das Acetum digitalis – , und den wässrigen Auszug der Blätter – den Infus – einer methodischen Untersuchung über die Differenzen ihrer Wirkung zu unterziehen. Seine Versuche führte er an mittelgroßen, curarisierten Hunden durch, deren Körpergewicht etwa gleich war. Die künstliche Beatmung dieser Tiere geschah mittels eines durch einen Motor bewegten Blasebalges. Es wurde dann der Blutdruck aufgezeichnet, und zwar mit Hilfe eines LUDWIGSchen Kymographen mit fortlaufendem Papierstreifen. Bezüglich der Applikation meinte FRAENKEL , wegen des Alkoholgehaltes der Tinktur einerseits und der freien Säure des Essigs andererseits könne an eine direkte Injektion in das Gefäßsystem

nicht gedacht werden. Überhaupt könnten die Medikamente in der Form , in der sie therapeutisch angewendet würden, nicht für einen Vergleich der Wirkung herangezogen werden, da ihre heterogenen Lösungsmittel verschiedenartigste Nebenwirkungen hervorrufen würden.

„Es mußte also sowohl die Tinktur wie das Acetum zunächst in eine Form übergeführt werden, in der diese Nebenwirkung ausgeschlossen war. Dies wurde durch Abdampfen beider Flüssigkeiten und Verjagen des Alkohols, respektive des Essigs erzielt” (106).

Nach physikalisch-chemischer Vorbereitung wurden die Präparate dann subkutan injiziert. „Diesen Applikationsmodus wählten wir, um ein möglichst allmähliches Hineingelangen des Giftes in die Zirkulation zu bewirken, infolgedessen die ersten zu beobachtenden Veränderungen wirklich als Ausdruck des Effektes der zum Vergleich dienenden und gesuchten Minimaldosis des betreffenden Präparates angesehen werden konnte. Sodann sollte auf diese Weise zugleich festgestellt werden, ob bei subkutaner Injektion der Ablauf der Vergiftungserscheinungen der nämliche sei, wie bei Einführung der Digitalis in den Magen, ...” (107).

Es wurden auf einmal nie mehr als 10 ccm Flüssigkeit innerhalb von 3 - 5 Minuten injiziert, und zwar nach Möglichkeit alle 10 Minuten bis zu „ausgesprochenen Giftwirkung” (108), respektive bis zum Tode des Tieres.

Zum Problem der Auswahl des Vergleichskriteriums schrieb FRAENKEL: „Nicht minder wichtig als der Applikationsmodus war die Frage, welches der sicherste bei der Beurteilung der größeren oder geringeren Wirksamkeit der einzelnen Präparate anzulegende Maßstab sei.” Diesbezüglich „springt die Verminderung der Pulsfrequenz mit Zunahme des Umfangs der einzelnen Schläge am meisten in die Augen und auch zuerst in die Erscheinung. Dieses Phänomen wurde daher von uns stets als ein sicheres Zeichen der eingetretenen Wirkung angesehen und, je nach dem dasselbe stärker oder weniger stark ausgesprochen, der Grad der Wirkung bemessen.” (109).

Zwar wurde auch in den meisten Versuchen eine mit der Pulsfrequenz Hand in Hand gehende Steigerung des arteriellen Blutdrucks festgestellt, die jedoch weniger auffallend schien als die Veränderung des Pulses, weshalb FRAENKEL sie für entschieden weniger geeignet hielt zur Feststellung des gesuchten Zeitpunktes als den Pulsverlauf. Als die typische Pulsveränderung bezeichnete er neben der Herabsetzung der Frequenz einen beträchtlichen Zuwachs der Pulshöhe.

Die einzelnen Versuche wurden in tabellarisch angelegten Protokollen wiedergegeben; es handelte sich um 4 Versuche mit dem Infus, 4 Versuche mit der Tinctura digitalis sowie 3 Versuche mit dem Acetum digitalis. Notiert wurden Zeit, Pulsfrequenz und Mitteldruck der Carotis. Die Zeit wurde registriert bis zu der von FRAENKEL als Endpunkt gewählten Pulsreduzierung. Nicht immer wurde das Gewicht der Hunde gemessen, auch zeigte sich, daß die Vorschrift, jeweils 10 ccm Substanz alle 10 min zu injizieren, nicht streng eingehalten wurde. Bei einigen Versuchen wurde kurz vor dem drohenden Tod des Tieres Strychnin in die V. jugularis injiziert, um zu prüfen, ob es möglich sei, die bevorstehende Herzlähmung hintan zu halten.

FRAENKEL faßte die Ergebnisse seiner Untersuchungen wie folgt zusammen:

- „1. Sowohl die Tinktur wie das Acetum digitalis vermögen gleich dem Infus auf das Hemmungsnervensystem des Herzens und das Gefäßnervenzentrum einen erregenden Einfluß auszuüben; doch zeigt die Wirkung der 3 Präparate nicht zu verkennende graduelle Unterschiede.
2. Am wenigsten zuverlässig wirkt die Tinktur; denn von 4 mit derselben angestellten Versuchen ergaben 3 ein negatives Resultat, respektive es trat bei ihnen unter dem Einfluß wiederholter Injektionen ein dem Tode vorausgehendes Absinken des Druckes mit Pulsbeschleunigung auf, ohne daß vorher die charakteristische Verlangsamung des Herzschlages mit Umfangszunahme der einzelnen Pulsationen wahrgenommen wurde.“ (110).

Das Problem der individuell verschiedenen Empfindlichkeit beim Versuchstier war auch FRAENKEL bekannt:

- „4. Der Eintritt der Digitaliswirkung (i. e. die pulsverlangsamende und drucksteigernde Wirkung) erfolgt sowohl bei dem Infus wie bei dem Acetum nach Einwirkung verschieden großer Dosen, was jedenfalls z. T. von der Individualität der Tiere, z. T. wohl auch von den mit diesen vor den Injektionen vorgenommenen Eingriffen (Curarisierung etc.) abhängt. Es schwankte die Summe der wirksamen Dosis beim Infus zwischen 25 (Versuch 3) und 80 ccm (Versuch 1).
5. Am relativ wirksamsten von den 3 geprüften Präparaten erwies sich das Acetum digitalis. In 2 von 3 mit diesen angestellten Versuchen trat ein exquisiter Effekt bereits nach Injektion von 15, respektive 25 ccm (entsprechend dem Essigauszug aus 1,5 - 2,5 g folia digitalis) ein.“ (111).

FRAENKELs wichtigstes Resultat war, „daß die von den Ärzten noch jetzt so vielfach in der Praxis angewandte Digitalistinktur physiologisch bei weitem weniger wirksam ist als der wässrige Auszug der Blätter“ (112).

Hier wird die Bedeutung solcher Tierversuche unmittelbar für die tägliche ärztliche Praxis sichtbar.

Fr. BENNEFELD machte 1881 in einer Inauguraldissertation seine „komparativ-experimentellen Untersuchungen über Digitalistinkturen“ bekannt (113). Die Arbeiten wurden im pharmakologischen Institut der Universität Göttingen unter der Leitung von Prof. MARMÉ durchgeführt.

Gegenstand dieser Vergleiche waren das Acetum digitalis, das Extraktum digitalis, die Tinctura digitalis und die Tinctura digitalis aetherea. BENNEFELD bezog sich auf eine Vorschrift der Pharmacopoea germanica zur Bereitung der alkoholischen Tinktur, welche besagte, daß zu ihrer Herstellung frisches Fingerhutkraut und nicht getrocknete Blätter verwendet werden sollten. In dieser Vorschrift sah er keinen Sinn, da er der Ansicht war, daß sämtliche wirksamen Bestandteile auch in den getrockneten Blättern vorhanden seien. Um festzustellen, ob in der Vorschrift nicht doch irgendwelche Vorteile lägen, wurden verschiedene offizinelle Tinkturen aus verschiedenen Gegenden des Deutschen Reiches überprüft, und zwar zunächst hinsichtlich ihres Spezifischen Gewichtes. BENNEFELD war durch die Arbeit von SCHNEIDER (114) bekannt, daß aus dem Spezifischen Gewicht der Wert einer Tinktur nicht bestimmt werden konnte, ebensowenig, wie man aus dem Spezifischen Gewicht auf die Menge an Trockensubstanz der Tinktur schließen konnte. Er bestimmte dennoch bei seinen Tinkturen ebenfalls die Trockensubstanz, und durch seine Versuche wurde das Ergebnis von SCHNEIDER bestätigt.

Da man nun aus dem Spezifischen Gewicht und der Menge der Rückstände keine Aussage über die Wirksamkeit der Tinkturen treffen konnte, sah sich BENNEFELD zu einer Versuchsreihe veranlaßt, „in welcher ich die Wirksamkeit der Tinkturen an möglichst gleichen Tieren zu bestimmen suchte“ (115). Die Tinkturen wurden nach exakter Vorbereitung auf den Versuch vor der Applikation auf Körpertemperatur erwärmt.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Die Lösungen wurden stets in die V. jugularis dextra in Mengen von je 1/2 ccm bis zu 20 ccm Gesamtmenge über eine in die Vene eingebundene Injektionskanüle verabfolgt. BENNEFELD bemühte sich, den Abstand zwischen den Injektionen immer gleich groß zu halten, sowie auch möglichst gleich alte und gleich schwere Tiere zu verwenden. Er beschrieb 9 Versuche mit den Tinkturen, bei denen er bereits Spezifisches Gewicht und Trockenrückstand bestimmt hatte. Die Tinkturen stammten aus verschiedenen deutschen Städten.

Im Versuchsprotokoll wurden das Gewicht des Tieres, die Herzaktion vor dem Versuch in Schlägen/5 sec., die Gesamtmenge der injizierten Tinktur sowie die

Zeit bis zum Tod des Tieres notiert, außerdem auffallende Besonderheiten. Im Anschluß an jeden Versuch fand eine Sektion des Tieres statt, wobei regelmäßig der Zustand der Harnblase, der Leber, der Lungen, des Herzens und der Nieren untersucht wurde.

Zusammenfassend zog BENNEFELD den Schluß, „daß die Wirksamkeit weder dem Spezifischen Gewicht noch dem Trockenrückstande der Tinktur proportional ist, und daß die Vorschrift der deutschen Pharmacopoea jedenfalls kein gleichmäßiges Präparat garantiert“ (116).

In weiteren Versuchen prüfte BENNEFELD Tinkturen aus getrockneten *Folia digitalis*. Dabei wollte er nicht nur die Wirksamkeit der aus getrocknetem Kraut hergestellten Tinkturen bestimmen und sich ein Urteil über das Verhältnis der wirksamen Bestandteile zum Spezifischen Gewicht und dem Trockenrückstand bilden, sondern auch Anhaltspunkte gewinnen, um die Frage zu entscheiden, „ob die Verkleinerungsweise des Krautes Einfluß habe auf eine größere oder geringere Gleichmäßigkeit der Tinkturen, und ob es in dieser Rücksicht etwa zweckmäßiger sei, die Tinkturen aus gepulverten Spezies statt, wie es die Pharmacopoea gestattet, aus grob gepulverten oder klein geschnittenen Drogen herzustellen“ (117).

Dieses Problem wurde später von FOCKE wieder sehr lebhaft diskutiert (118).

Die mit 3 verschiedenen Tinkturen durchgeführten Versuche an Kaninchen ergaben, daß die aus feinst gepulverten Blättern hergestellte Zubereitung die aus grob geschnittenen Blättern an Wirksamkeit bei weitem übertraf.

BENNEFELD faßte die Ergebnisse seiner Arbeit wie folgt zusammen:

„Die Tinktura digitalis ætherea ist ohne Wert.

Die Tinktura digitalis aus frischen Blättern ist schwankend hinsichtlich des Gehaltes an wirksamen Bestandteilen, Spezifischen Gewichtes und Rückstandes ; von großem Einfluß ist dabei der Standort der Mutterdroge.

Die Tinktur aus vorschriftsmäßig getrockneten und zerkleinerten Blättern derselben Pflanze ist :

- a) durchaus wirksam ;
- b) schwankend hinsichtlich des Spezifischen Gewichtes, Rückstandes und Gehaltes an wirksamen Bestandteilen, wenn sie aus grob zerschnittenen Blättern hergestellt ist ;
- c) die Tinktur aus getrockneten, fein gepulverten Blättern ist wirksamer als jene und gleichmäßiger.“ (119).

Damit hat auch BENNEFELD schon die Bedeutung der vorschriftsmäßigen Trocknung und Zerkleinerung der Blätter erkannt und das Hauptproblem bei der Therapie mit Tinkturen herausgestellt: den schwankenden Gehalt an wirksamer Substanz, der die Entwicklung eines Standardisierungsverfahrens so dringend erforderlich machte.

JEAN BAPTISTE VINCENT LABORDE und H. DUQUESNEL, deren Froschversuche wir schon kennengelernt haben (120), gaben sich mit diesen Untersuchungen nicht zufrieden und führten ihre physiologische Prüfung auch mit Meerschweinchen durch (121). Auch hier wurde die Gleichheit der Versuchsbedingungen hervorgehoben: Die Meerschweinchen waren von gleichem Alter, aus der gleichen Familie und von gleichem Gewicht. Jeweils 1 ccm Digitalinlösung wurde in den linken Oberschenkel injiziert. Der Thorax wurde in dem Augenblick eröffnet, wo ein baldiger Tod der Tiere zu erwarten war. Die auf diese Weise durchgeführten Versuche bestätigten die Ergebnisse, die LABORDE und DUQUESNEL bei den Froschversuchen erhalten hatten: Das Tier, welches Digitalin „NATIVELE“ bekommen hatte, starb nach etwa 35 Minuten, das mit Digitalin Merck vergiftete nach fast 24 Stunden.

An anderer Stelle (122) wird die physiologische Prüfung an zwei Meerschweinchen mitgeteilt, von denen eines 300, das andere 330 g wog. Dem ersten Tier wurde 1/2, dem zweiten 1 Zentigramm einer Digitalinlösung aus den Pariser Hospitälern subkutan unter die Haut des Rückens injiziert. Das erste Tier starb nach 48 Stunden, das zweite Tier nach 24 Stunden. Ein zum Vergleich von LABORDE geprüftes Präparat rief den Tod eines Meerschweinchen nach einer Stunde hervor. Auch diese Prüfung unterstützte also LABORDEs These, daß in den Pariser Hospitälern minderwertige Präparate ausgegeben würden.

Entsprechend seinen Untersuchungsergebnissen gab LABORDE die dringende Empfehlung an alle seine Pariser Kollegen – bei welcher Indikation auch immer –, das Digitalin nicht aus dem Hospital zu beziehen, sondern es sich selber dorthin zu besorgen, wo man Vertrauen haben könne. Er gab seinem Bedauern darüber Ausdruck, daß man in den Hospitälern offensichtlich den finanziellen Gewinn mehr im Auge habe als das Wohl des Patienten.

Auch LABORDE sah in der Weiterentwicklung von Wirksamkeitsprüfungen eine „fundamentale Frage: Nämlich die der genauen Kenntnis der Wirksamkeit von medikamentösen Substanzen, basierend auf der experimentellen Forschung, welche allein imstande ist, eine vernünftige und wahrhaft wissenschaftliche Therapie zu begründen.“ (123).

Auch E. GLEY hat bei seinem Wirkungsvergleich zwischen Ouabain und Strophanthin außer Froschversuchen Untersuchungen an höherstehenden Tieren, und zwar Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden durchgeführt (124). Da-

bei fand er, daß die toxische Grenzdosis für Ouabain am Meerschweinchen bei subkutaner Injektion, die ausnahmslos in die Muskeln des rechten Oberschenkels durchgeführt wurde, abgerundet  $1/10$  Milligramm pro Kilogramm Tiergewicht (also z. B.  $1/20$  Milligramm für ein Meerschweinchen von 500 Gramm) betrug, wobei der Tod nach 25 Minuten eintrat. Dieser Dosis entsprach dagegen beim Strophanthin  $4/10$  Milligramm, wobei der Tod nach etwa 50 Minuten eintrat. Die Zahlen wurden aus 15 Versuchen gewonnen, jedoch hat GLEY bei seinen Versuchen auch erhebliche Schwankungen gesehen und nannte die von ihm gefundenen Dosen von  $1/10$  Milligramm für Ouabain und  $4/10$  Milligramm für Strophanthin die „ausreichende toxische Dosis“. Er stellte sich dann die Frage: „Aber gibt es nicht eine andere toxische Dosis, die man als die „wirksamste toxische Dosis“ bezeichnen könnte? Es ist dies die Dosis, die den Tod im Minimum der Zeit hervorruft“ (125). GLEY fand nach dieser Definition für das Ouabain einen Wert von  $2/10$  Milligramm pro Kilogramm Tiergewicht, eine Dosis, die den Tod in 20 Minuten oder etwas weniger hervorrief. Auch wenn man diese wirksamste Dosis um vieles überstieg, trat der Tod nicht schneller ein, auch wenn man z. B. 0,001 oder 0,005 Gramm injizierte. GLEY erklärte sich die Schwankungen in der Wirksamkeit vieler Zubereitungen vorwiegend mit der unterschiedlichen Empfindlichkeit der einzelnen Tiere: „Aus diesen Experimenten, die ich an Meerschweinchen durchgeführt habe, ergibt sich außerdem, daß der Grad der Verdünnung keinen spürbaren Einfluß auf die Giftigkeit ausübt, zumindest nicht in den Grenzen, in denen ich experimentiert habe, nämlich mit Lösungen, die zwischen  $1/4$  und 2 ccm Wassergehalt lagen. Die entscheidendste Ursache für die Schwankungen in der Giftigkeit dieser beiden Substanzen wie auch vieler anderer Substanzen liegt, soweit man weiß, in dem physiologischen Faktor im eigentlichen Sinne, das ist der Grad der organischen Widerstandskraft, der von mehreren Faktoren abhängt und der je nach Individuum verschieden stark ist.“ (126).

Die gleichen Versuche, ebenfalls mit subkutaner Injektion in den Oberschenkel, stellte GLEY mit Hunden an und fand hier pro Kilogramm Tiergewicht die gleichen Werte wie bei Meerschweinchen. Darüber hinaus hat GLEY Bestimmungen mit intravenöser Injektion durchgeführt, die ihm der subkutanen Injektion aus verschiedenen Gründen, unter anderem wegen der größeren Konstanz der Resultate, überlegen schien. Dabei injizierte er Kaninchen in eine Ve-ne des Ohres und fand mit  $3/20$  Milligramm pro Kilogramm Tiergewicht bei Ouabain und  $5/20$  Milligramm pro Kilogramm Tiergewicht bei Strophanthin etwas höhere Werte als bei den anderen Versuchen, woraus er schloß, daß das Kaninchen etwas widerstandsfähiger gegen die Wirkung der beiden Substanzen war als Hund und Meerschweinchen.

Bei weiteren Versuchen wurden die beiden Substanzen oral gegeben und GLEY fand es ganz natürlich, daß sie dann weniger toxisch waren.



Er faßte seine Ergebnisse mit den Worten zusammen: „Man kann also sagen, daß für das Kaninchen die Giftigkeit von Ouabain fast doppelt so groß ist wie die von Strophanthin; beim Hund ist sie dreimal und beim Meerschweinchen viermal so groß. Darüberhinaus wirkt Strophanthin immer weniger rasch. Am Frosch, jedoch nur gemessen an der Geschwindigkeit der Wirkung auf das Herz, ist die Giftigkeit von Ouabain doppelt so stark.“ (127).

Solche Versuchsreihen, die mit mehreren Substanzen an mehreren verschiedenen Tieren und vielleicht noch nach verschiedenen Methoden durchgeführt worden waren, erbrachten allmählich die für viele Forscher entmutigende Erkenntnis, daß sich international vergleichbare Aussagen über die Wirksamkeit bestimmter Digitalispräparate nur mit methodisch vollständig vereinheitlichten Meßverfahren erzielen ließen.

Nur am Rande erwähnt seien hier die von FRANZ PFAFF um 1890 im Laboratorium für experimentelle Pharmakologie in Straßburg auf Veranlassung von O. SCHMIEDEBERG durchgeführten Untersuchungen (128). Gegenstand dieser Experimente war der Vergleich der Wirkung von Digitalis und Digitalin in bezug auf Blutdruck und Diurese.

PFAFF benutzte dazu Katzen, Hunde und Kaninchen; gemessen wurden nach intravenöser Injektion der zu vergleichenden Substanzen die Harnmenge und der Blutdruck.

Das Ergebnis dieser Versuche war, „daß Katzen ungemein empfindlich sowohl gegen Digitalis als auch gegen Digitalin sind“, und „daß Digitalis und Digitalin in ihren Einwirkungen auf Blutdruck und Diurese bei Hunden, Katzen und Kaninchen vollständig gleiche Wirkung hervorbringen, und auch in der Weise stimmen sie völlig miteinander überein, daß der Grad des überhaupt zu erreichenden Effektes bei beiden der gleiche ist“ (129).

#### 2.1.4 Die Methoden zur „Physiologischen Wertbestimmung“

Bei diesen Versuchen liegt der Unterschied zu denen der vorgenannten Gruppe nicht so sehr in der Versuchsanordnung und Durchführung, welche im Gegenteil nahezu identisch sind, sondern vielmehr in der Zielsetzung. Wenngleich auch hier fließende Übergänge bestehen, so läßt sich doch feststellen, daß, wo von „physiologischer Wertbestimmung“ die Rede ist, nun ein einzelnes Präparat in seiner Wirksamkeit bestimmt und definiert werden soll, wobei dann zum Vergleich ein möglichst bekanntes Präparat herangezogen wird, welches später ganz konkret als „Standard“ dient. Im Laufe der Entwicklung bereiteten einerseits die Definition und Normierung dieses Standards, andererseits die Festlegung auf eine einzige, genau beschriebene Bestimmungsmethode erhebliche Schwierigkeiten und offenbarten die Probleme und Nachteile der „physiologischen Wertbestimmung“ und „Standardisierung“ anhand von Tiermethoden.

Mehr und mehr trat auch bei der Ausarbeitung der Methoden zur physiologischen Wertbestimmung der Zweck der einfacheren und einheitlichen Dosierbarkeit der „titrierten“ Heilmittel in den Vordergrund.

Der Suche nach dem Wirkungsmechanismus oder nach qualitativen Unterschieden von Herzgiften galten die hier zu besprechenden Verfahren im allgemeinen jedenfalls nicht mehr.

#### 2.1.4.1 Verwendung von Kaltblütern

J. L. PREVOST begründete seine 1893 veröffentlichte Arbeit (130) damit, daß er den Wert einiger Präparate feststellen wollte, die in der neu erschienenen Schweizer Pharmacopoe aufgeführt waren. Es handelte sich durchweg um Flüssigextrakte, und PREVOST hatte sich damit zu befassen, welche minimale und welche maximale Dosis für die Praxis anzugeben seien. Der genaue „toxische Wert“ der Substanzen galt als nicht bekannt. PREVOST betonte die Notwendigkeit sowohl einer chemischen Analyse, damit man den Wert anhand „wirksamer Alkaloide“ bestimmen könne, als auch die Bedeutung einer physiologischen Prüfung.

M. KELLER, Kantonspharmazeut von Zürich, hatte sich bereit erklärt, einige Präparationen zur Verfügung zu stellen, so daß PREVOST mehrere Extrakte von Digitalis, Convallaria, Schierling, Eisenhut, Herbstzeitlose usw. erhielt. Diese wurden verschiedenen physiologischen Tests an Fröschen und auch an Säugetieren unterzogen.

„Auf diese Weise gelangte ich zu einer relativen Skala der Giftigkeit von mehreren dieser Substanzen, indem ich sie zu einem bekannten Typ in Bezug setzte.“ (131).

Die praktische Bedeutung seiner Ergebnisse sah PREVOST darin, daß er einige der getesteten neuen Extrakte wesentlich stärker fand als die gebräuchlichen.

„Meine Untersuchungen bestanden darin, die Dosis herauszufinden, die Herzstillstand und Tod eines roten Frosches (132) nach einigen Stunden hervorruft. Zu der Jahreszeit, in der ich arbeitete, hatte ich nur rote Frösche zur Verfügung, die ja bekanntlich den Digitalispräparaten gegenüber empfindlicher sind als der Laubfrosch (133). Folgerichtig muß man die Werte, die ich mit dem roten Frosch erhalten habe, ein wenig mehr als doppelt nehmen für den Laubfrosch.“ (134).

Eine Methode der Wertbestimmung war PREVOST bekannt, und zwar die, bei der verschiedene Dosen injiziert oder direkt auf das Herz gebracht wurden, und dann die Zeit bis zum Herzstillstand in Abhängigkeit von der Dosis notiert wurde. Diese Methode war ihm von seinem Kollegen DEMME mündlich berichtet worden, sie war ihm aber auch bekannt von FRASER aus dessen Studie über *Strophanthus hispidus* (135).

„Ich selber ziehe, weil sie weniger Fehlerquellen hat, die Methode vor, bei der die minimale Dosis gesucht wird, die den definitiven Herzstillstand und den Tod des Tieres nach sich zieht. Indem ich die gleichen Untersuchungen mit den verschiedenen Extrakten, die ich prüfen sollte, durchführte und vergleichsweise mit den Körnchen des Digitalin von HOMOLLE und QUEVENNE und dem kristallisierten Digitalin NATIVELLE, konnte ich eine Stärkeskala für die verschiedenen Produkte aufstellen und erhielt eine Tafel, die seither durch meine nachfolgenden Untersuchungen nur bestätigt werden konnte.“ (136).

Außer an Fröschen arbeitete PREVOST auch an Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen, Ratten und anderen Säugetieren. Er hielt jedoch den Frosch für das am besten geeignete Tier, weil die Säugetiere in ihrer Empfindlichkeit so sehr schwankten.

Die meisten Bestimmungen wurden an *Rana temporaria* im Winter durchgeführt, später auch mit *Rana esculenta*. Bei diesen späteren Untersuchungen wurden die Tiere auch gewogen, was bei den vorangegangenen Tests vernachlässigt worden war. PREVOST fand zwar einen Einfluß des Gewichtes auf die Resultate, wollte ihn jedoch nicht überbewerten.

Der Ablauf einer Prüfung soll am Beispiel des Digitalin HOMOLLE und QUEVENNE gezeigt werden: Zunächst Injektion in den Lymphsack. Dann Beschreibung der Beobachtungen am Herzen bei steigender Dosierung, ausgehend von 0,001 g. Bei dieser Dosierung erholt sich das Tier am nächsten Tag wieder. Bei 0,0015 g entsprechend 1 1/2 Körnchen „HOMOLLE und QUEVENNE“ stirbt jedoch ein durchschnittlich großer Frosch (*Rana temporaria*) nach einigen Stunden, spätestens am nächsten Tag. Dieses Ergebnis wiederholte sich ständig, so daß PREVOST 1 1/2 Körnchen „HOMOLLE und QUEVENNE“ an *Rana temporaria* als Maßstab und Standard festlegte, an dem er die anderen Produkte verglich. Für die weniger empfindlichen *Rana esculenta* ermittelte er: „Um das Herz eines Laubfrosches von durchschnittlicher Größe zum Stillstand zu bringen, braucht man anstelle von 0,0015 g ungefähr 0,0045 g entsprechend 4 1/2 - 5 Körnchen „HOMOLLE und QUEVENNE“.“ (137).

Bezüglich der Experimente an Säugetieren stand für PREVOST schnell fest, daß diese wegen ihrer schwankenden Empfindlichkeit bei weitem nicht so gut für die Wertbestimmung geeignet waren wie der Frosch. Allerdings zeigten die gewonnenen Resultate, daß die am Frosch erhaltene „Toxizitätstafel“ am Meerschweinchen überprüft werden konnte (Tafel 6). Wie auch

# Rapport des diverses préparations du groupe digitale.

*Dose toxique.*

	DIGITALINES					Extrait fluide de Convallaria.	Extraits fluides digitale		Extrait sec duplex.	Tointure 1/10.	Infusion de feuilles.
	Homolle et Quevenne.	Schær		Allemaunde	Nativelle.		N° 26 de la Pharmacopée éd. III.	N° 6 non admis.			
		au Zinc.	au Plomb.								
GRENOUILLE ROUSSE (Moyenne).....	0.0015	0.0015	0.0015	0.003	0.0008	0.003	0.02	0.04			0.45
GRENOUILLE VERTE (Moyenne).....	0.003	0.003	0.003		0.002	0.009	0.05		0.025	0.50	
	à	à	à			Exp. anciennes.				à	
Généralement plus grosses que les rouges.	0.005	0.005	0.005			0.005				0.80	
						Exp. récentes.					
COCHON D'INDE Pour 100 grammes...	0.0005					0.006	0.01	0.02			

beim Frosch wurde hier ein „Urmaß“ angelegt, und zwar betrug es 1/2 Körnchen „HOMOLLE und QUEVENNE“ entsprechend 1/2 mg/100 g Meer-schweinchen.

Nach Ansicht von PREVOST eignete sich der rote Frosch am besten für die Versuche, da *Rana esculenta* weniger eindeutig reagierte und häufiger die Muskeln anstelle des Herzen paralytisiert wurden.

A. JAQUET in Basel hatte im Sommer 1896 von dem Apotheker GOLAZ aus Vevey eine Anzahl von Präparaten, welche durch ein besonderes Dialysierungsverfahren gewonnen worden waren, zur Feststellung ihrer Wirkungsstärke erhalten. Um sicher zu gehen, daß es sich bei dem Verfahren von GOLAZ wirklich um Dialyse handelte, ließ JAQUET durch den Dozenten KUNZ-KRAUSE aus Lausanne in einem Gutachten feststellen, daß die Bezeichnung „Dialysate“ für die Präparate berechtigt war (138). KUNZ-KRAUSE führte auch eine chemische Bestimmung des Gehaltes an wirksamer Substanz bei diesen Präparaten durch. Die daraufhin von JAQUET angestellten Versuche dienten der Feststellung ihrer Toxizitätsgrenze; anhand der so gewonnenen Resultate sollte die Dosierung mit größerer Sicherheit angegeben werden können. „Die chemische Analyse gestattet eine solche Dosierung nicht“ (139), es sei denn, die Wirksamkeit hing, wie beispielsweise bei der Belladonna, von einer einzigen Substanz ab.

JAQUET hat insgesamt 7 Dialysate untersucht, u. a. aus *Folia Belladonna*, *Folia Aconiti napelli* und *Folia Digitalis purpurea*. Er benutzte dazu Frösche, und zwar sowohl *Rana esculenta* als auch *Rana temporaria*, und Kaninchen. Wir wollen uns hier auf die Versuche mit dem Dialysat aus *Folia digitalis* beschränken.

Es wurde der Gehalt an wirksamer Substanz (z. B.: 20 Tropfen enthalten 1 mg Glykosid) notiert, dem Frosch wurden bei bloßgelegtem Herzen zunächst 20, darauf in mehreren Versuchen 10 Tropfen in den Schenkel-lymphsack injiziert. Festgehalten wurden Zeit und Herzfrequenz, außerdem wurde im Verlaufe des Versuches die elektrische Reizbarkeit von Nerven und Muskeln kontrolliert. Die Zeit bis zum Eintritt des Todes wurde gemessen.

JAQUET sah als Ergebnis seiner Versuche, daß das Dialysatum *fol. digitalis* ein recht wirksames Präparat war, dessen Wirksamkeit zwischen derjenigen einer Digitoxinlösung und derjenigen einer Lösung von Digitalinum verum lag. Er schloß sich der Meinung von GOLAZ an, der u. a. als Vorteil seines neuen Verfahrens die genauere Dosierbarkeit der Produkte nannte.

Auf die an Kaninchen durchgeführten Wertbestimmungsversuche von JAQUET werden wir später eingehen.

E. M. HOUGHTON in Detroit, Michigan, machte 1898 darauf aufmerksam, daß die Pharmakopoe der USA und anderer Länder, so wie es für starke Gifte üblich sei, auch für die Herzmittel wie Digitalis und Strophanthin strenge Prüf- und Standardisierungsvorschriften erlassen müßte, denn der zunehmende Umgang damit sei nicht ungefährlich (140). Bei den Herzmitteln lag das Problem jedoch darin, daß es sich um Glykoside handelte, die bei einer chemischen Manipulation zu leicht zerfielen, als daß eine solche Wertbestimmung durchgeführt werden könnte. Schon bei dem Rohmaterial von Digitalis und Strophanthus sah HOUGHTON die Gefahr der Untermischung von fremdem und minderwertigem Material, eine Gefahr, die nur durch exakte botanische Überprüfung umgangen werden konnte. Erfahrungsgemäß ergaben sich hier bei Digitalis noch verhältnismäßig wenig Schwierigkeiten, „weil diese Droge in zivilisierten Ländern gesammelt wird“ (141). Bei den Strophanthuskeimlingen jedoch, die aus dem „wildem Afrika“ importiert wurden, hatte man schon erhebliche Schwierigkeiten.

HOUGHTON befaßte sich im College of Medicine in Detroit besonders mit dem Strophanthin. Nachdem er erkannt hatte, daß es Schwierigkeiten gab, die eine chemische Prüfung der Herzmittel geradezu unmöglich machten, daß es aber andererseits für den Arzt von ungeheurer Bedeutung war, diese Medikamente in irgendeiner Weise zu standardisieren, entschied er sich dafür, an lebenden Tieren zu experimentieren. Er hoffte, dabei Zahlenwerte zu erhalten, an denen die physiologische Wirksamkeit sowohl der rohen Droge als auch der pharmazeutischen Präparate und der aktiven Bestandteile abgelesen werden konnte. Da man nun nicht sicher sein konnte, daß jede Probe von Strophanthuskeimlingen oder Digitalisblättern, die man auf dem Markt fand, überhaupt wirksam war, schien es ihm das beste, zunächst festzustellen, ob die spezifische Wirkung der Herzmittel von den Proben überhaupt hervorgerufen wurde. Im weiteren sollten dann Methoden gefunden werden, um die Substanzen zu standardisieren.

In Bezug auf die zunächst genannten qualitativen Reaktionen war HOUGHTON der Auffassung, daß nur zwei Serien von Experimenten nötig waren, um zu zeigen, ob eine Probe eines Medikamentes die spezifische Herzwirkung zeigte oder nicht. Das war zum einen die Applikation einer Lösung auf das bloßgelegte Froschherz, wobei der verlangsamte Herzrhythmus, die immer unvollständiger werdende Diastole, die zunehmende Systole und schließlich der systolische Stillstand des Ventrikels als die typischen Symptome festgehalten wurden. Die zweite Methode war die intravenöse Injektion solcher Lösungen an Hunden oder Kaninchen, wobei die Schwankungen des Blut-

drucks und des Herzschlages beobachtet und als Kurve mit einem Kymograph aufgezeichnet werden sollten. Weitere Tests hielt HOUGHTON für überflüssig. Die physiologische Wirksamkeit jeder Probe sollte dann mit einer Standardprobe von bekannter Stärke verglichen werden.

Bezüglich dieser quantitativen Prüfung sah HOUGHTON schon wesentlich größere Schwierigkeiten. Er meinte, daß die Ergebnisse, die mit der Blutdruckmethode an Hunden, Kaninchen usw. gewonnen worden seien, viel zu sehr schwankten. Darüberhinaus waren diese Experimente sehr kompliziert und zu schwierig in der Durchführung. Er selber hatte gefunden, daß man recht genaue Werte erhalten konnte, indem man eine Lösung, die Strophanthin, Digitalin usw. enthielt, dem freigelegten Froschherzen applizierte und dann die Wirkung des Medikamentes mit der einer bekannten Probe verglich. Jedoch auch diese Methode wurde dann wieder zugunsten einer noch einfacheren verlassen, die darüberhinaus auch bessere Ergebnisse lieferte: „Es schien mir ganz wahrscheinlich, daß die Stärke der Herzmittel anhand ihrer tödlichen Wirkung bestimmt werden könne, wenn man sie Tieren niederer Ordnung verabreichte.“ (142). Entsprechend wurden Kaninchen, Meer-schweinchen, Ratten, Frösche usw. zur Bestimmung der kleinsten tödlichen Dosis des Medikamentes angewendet. Schließlich entschloß sich HOUGHTON, Frösche als für diesen Zweck am besten geeignete Tiere auszuwählen. Verschiedene Froscharten fand er stark unterschiedlich in ihrer Reaktion auf die Gifte, aber innerhalb einer Spezies war das Verhalten immer wieder sehr ähnlich. HOUGHTON wählte Frösche von nahezu gleicher Größe zur Standardisierung. Solche, die weniger als 30 g wogen, konnte er zu einem sehr günstigen Preis von Fischern bekommen, „da sie für den Mittagstisch zu klein sind“ (143). Von dem Moment der Gefangennahme an sollten die Frösche mit großer Sorgfalt behandelt und in feuchtem Moos gehalten werden, bis sie im Labor eintrafen; dann sollten sie in passende Teiche umgesetzt werden.

HOUGHTONS Wertbestimmungsmethode läßt sich im einzelnen folgendermaßen beschreiben: Zunächst Auflösung des Strophanthin oder der Tinktur in normaler Salzlösung. Die zu injizierende Menge sollte 0,5 ccm nicht überschreiten, wobei diese Flüssigkeitsmengen mit Hilfe schlanker Pipetten gemessen wurden. Die Injektion wurde durch das Maul des Frosches in den abdominalen Lymphsack durchgeführt; dabei sollte man auf jeden Fall eine Verletzung der Haut vermeiden, damit die injizierte Flüssigkeit nicht zum Teil wieder auslaufen konnte. Die Frösche wurden dann in Gläser mit großen Öffnungen gesetzt, die etwa 1/4 inch Wasser enthielten. Üblicherweise brauchte HOUGHTON mehrere Serien von etwa 5 Fröschen für jede zu prüfende Droge, wobei zunächst einmal eine Serie von Fröschen mit einem Präparat von bekannter Standardstärke getestet werden sollte.



HOUGHTON fand, daß 0,00015 ccm/g Froschgewicht ziemlich genau die toxische Wirksamkeit einer gewöhnlichen Tinktur darstellte, die aus Strophanthus Kombé hergestellt war. Bei der zweiten Serie wurden möglichst weit auseinanderliegende Dosen gewählt, und wenn man damit die ungefähre Dosis gefunden hatte, wurde eine dritte Froschserie untersucht; konnte damit noch nicht ganz exakt die Minimaldosis bestimmt werden, so ließ sich eine vierte Serie anschließen. Die kleinste tödliche Dosis sollte mindestens 3 von 5 Fröschen töten. Starben weniger, so war es nach HOUGHTON am besten, eine neue Serie mit geringfügig größeren Dosen zu injizieren. Für einen großen Vorteil seiner Methode hielt HOUGHTON die Tatsache, daß verschiedene Arten und Größen von Fröschen zu jeder Jahreszeit verwendet werden konnten, denn die Frösche konnten nach Art und Größe sortiert werden. Das Wesentliche war, daß standardisierte und nicht standardisierte Präparate gleichzeitig getestet wurden, wobei die Frösche von derselben Art sein mußten und unter denselben Bedingungen gehalten werden mußten. Es waren dann nur vergleichende Untersuchungen nötig, weil die Standardlösung ihre Wirksamkeit nahezu unvermindert behielt. Das bewies HOUGHTON anhand einer Langzeituntersuchung, bei der dieselbe Strophanthustinktur im Verlauf von zwei Jahren mehrfach getestet wurde.

Ein Beispiel für seine Arbeit sind die Ergebnisse eines Tests, bei dem 6 Strophanthintinkturen geprüft wurden, die „von 3 der besten chemischen Hersteller der Welt“ stammten (144). Sie wurden für reines Strophanthin gehalten, und dennoch war eine Probe 90 x stärker als eine andere, die übrigen lagen mit ihren Werten dazwischen. HOUGHTON ging davon aus, daß die Digitalinpräparate genauso in ihrer Stärke schwankten, jedoch nicht so ausgeprägt wie Strophanthin.

HOUGHTON war einer der ersten, der die einzige Möglichkeit, solche Heilmittel mit einer gewissen Zuverlässigkeit zu bekommen, darin sah, daß man sie einem Lager von bekannter „physiologischer Stärke“ entnahm und er hoffte, daß die von ihm entworfene Prüfmethode weiter entwickelt wurde und auch andere auf diesem Gebiet arbeiteten.

Dabei unterstellte er nicht, daß seine Methode die beste zur pharmakologischen Wertbestimmung war, denn er wußte noch nicht, ob sie auf alle Medikamente dieser Art anwendbar sein würde.

Man kann heute sagen, daß die von HOUGHTON vorgeschlagene Methode zur Gewinnung von standardisierten Digitalispräparaten vielleicht als erste alle wesentlichen Ansätze enthielt, die später bei den Wertbestimmungsmethoden selbstverständlich waren, wie z. B. die Zugrundelegung eines Stan-

dards und die Annäherung an eine statistisch verwertbare kleinste tödliche Dosis.

C. BÜHRER von der Medizinischen Klinik in Basel hat seine Versuche im Jahre 1899 unter der Leitung von Prof. JAQUET im Baseler klinischen Laboratorium durchgeführt (145). Untersuchungsgegenstand waren die neu in die Schweizer Pharmacopoe, 3. Ausgabe, aufgenommenen Fluidextrakte von Digitalis, Convallaria, Belladonna, Colchicum und Aconit.

J. L. PREVOST hatte beim Vergleich der Toxizität verschiedener pharmazeutischer Präparate eine besonders intensive Wirkung gerade der Digitalis-Fluidextrakte gezeigt (146), und diese Tatsache, so meinte BÜHRER „läßt die praktische Bedeutung selbst geringer Schwankungen im Gehalt an aktiver Substanz bei diesen Präparaten ganz besonders deutlich hervortreten und eine experimentelle Untersuchung der hier bestehenden Verhältnisse in hohem Grade wünschenswert erscheinen“ (147).

BÜHRER hat in zwei kurzen Abschnitten die Probleme auf diesem Gebiet, die teilweise bis heute bestehen, so treffend gekennzeichnet, daß diese Abschnitte hier zitiert werden sollen:

„Zur Bestimmung der Wirksamkeit eines Arzneipräparates stehen uns zwei allerdings nicht gleichwertige Methoden zu Gebote. Nach der ersten von ihnen, der chemisch-analytischen, können wir auf chemischem Wege die wirksamen Bestandteile aus den fraglichen Präparaten isolieren und ihre Menge feststellen. Diese Methode ist für eine ganze Anzahl von Drogen anwendbar und gibt genaue Resultate, insofern in der Droge nur wirksame Substanz enthalten ist, deren chemische Eigenschaften genau bekannt sind und die sich leicht isolieren läßt. Sobald wir es aber mit Drogen zu tun haben, welche sich aus mehreren wirksamen Prinzipien zusammensetzen, oder wenn die in Frage stehenden aktiven Körper chemisch noch nicht genügend charakterisiert sind, um mit Leichtigkeit isoliert und dosiert zu werden, dann ist diese Methode mit derartigen Schwierigkeiten und Unsicherheiten verbunden, daß sie keine brauchbaren Resultate mehr liefert.

Die zweite Untersuchungsmethode, die toxikologische oder pharmakodynamische, ist dagegen in allen Fällen anwendbar. Wir bestimmen mit ihr am lebenden Tier die minimale Dosis, welche den Tod, respektive eine gewisse bekannte Wirkung des Giftes herbeizuführen vermag.

Durch Vergleichung der aus einer genügenden Anzahl von Versuchen auf diese Art und Weise gewonnenen Resultate sind wir imstande, uns eine Vor-

stellung von der Wirksamkeit der untersuchten Präparate zu machen. Allerdings darf man auch in diesem Fall vom Tierversuch nicht mehr verlangen, als er tatsächlich zu leisten vermag. Wir haben eben stets mit individuellen Verschiedenheiten in der Empfindlichkeit der Versuchstiere zu rechnen, sowie mit Einflüssen, wie Alter, Geschlecht, Jahreszeit, Ernährungszustand etc., Faktoren, welche alle für die Widerstandsfähigkeit der Tiere von großer Bedeutung sind .....

Jedoch gelingt es durch eine rationelle Anordnung der Tierexperimente, viele der genannten Ursachen von Versuchsfehlern zu vermeiden, so durch eine möglichst große Anzahl gleichartiger Versuche, durch Verwendung von nur frischem Tiermaterial, durch Wiederholung ganzer Versuchsserien zu verschiedenen Jahreszeiten, durch ausschließliche Verwendung von Tieren gleicher Spezies und gleichen Geschlechtes zu kongruenten Versuchen, durch Bestimmung und Berechnung des Körpergewichts usw.

Diese zweite Methode haben wir denn auch bei unseren Untersuchungen ausschließlich benützt und die dabei gewonnenen Resultate sprechen wohl unzweideutig für ihre Brauchbarkeit." (148).

BÜHRER begann die Untersuchung mit dem Extractum digitalis fluidum. Hierbei waren 4 schweizerische Fluidextrakte aus je 2 Jahrgängen zu testen. Als Kriterium für die Wirkung der Digitalispräparate diente der Stillstand des Froschherzens in maximaler Systole. Es wurden 0,5 ccm des mit Aqua dest. auf ein bekanntes Verhältnis verdünnten Fluidextraktes in einen Schenkel-lymphsack eines weiblichen Exemplares von *Rana temporaria* injiziert und dann bestimmt, ob innerhalb 24 h nach Injektion der charakteristische Herzstillstand eintrat oder nicht. Kam es zum Stillstand, so wurden größere Verdünnungen angewendet, blieb er aus, wurden konzentriertere Lösungen appliziert.

„Durch eine genügend große Anzahl derartiger Experimente wurde festgestellt, wie groß die Verdünnung eines Digitalisfluidextraktes sein darf, um gerade noch den Herzstillstand herbeizuführen." (149).

Die gleichen Präparate wurden auch nach einer Warmblütermethode getestet, die an anderer Stelle beschrieben werden soll.

H. ZIEGENBEIN berichtete 1902 über die Arbeiten von ARTHUR und HANS MEYER, welche seit etwa 1899 in Marburg systematische Züchtungsversuche anstellten, um eine kräftige und stets gleichartig wirkende Digitalisrasse zu gewinnen, an denen HANS MEYER eine physiologische Prüfung durchführte (150). Nach ZIEGENBEIN hat HANS MEYER bereits quantita-

tive Giftwertbestimmungen ausgeführt, als C. BÜHRER seine Arbeiten veröffentlichte.

Bei MEYERs Methode wurde wie folgt vorgegangen: Aus einer kleinen Menge luftgetrockneter, grob gepulverter Blätter wurde ein ca. 10 %iges wässriges Extrakt hergestellt, so daß 1 ccm davon 0,1 g trockener Blätter entsprach. Das Versuchstier war *Rana temporaria*, frisch gefangen, männlich (um den Einfluß des Geschlechtes auszuschalten). Das Herz des flach aufgespannten Tieres wurde unter Vermeidung von Verletzungen freigelegt. Die Extraktmenge wurde dem Frosch in den rechten Schenkellymphsack injiziert. Es wurde dann beobachtet, ob innerhalb von 2 h systolischer Herzstillstand eintrat. Wurde diese Frist überschritten, so wurde systematisch weiter eine immer höhere Dosis verabreicht, bis die niedrigste Menge gefunden war, die systolischen Herzstillstand innerhalb von 2 h hervorrief.

ZIEGENBEIN selbst verwendete exakt diese Methode im Laufe des Winters 1901/1902, mit der kleinen Änderung, daß das extrahierte Blattpulver außer mit warmem Alkohol noch mit 50 ccm heißem Wasser nachgewaschen wurde. Das gleiche Vorgehen wählte SIEBERT bei seiner Wertbestimmung von *Digitalis* und *Strophanthus* (151). Der Giftwert der trockenen *Digitalis*blätter wurde pro 100 g Froschgewicht angegeben. Dabei ließ ZIEGENBEIN kleine Differenzen im Gewicht der Frösche unbeachtet. Den Versuchsprotokollen kann entnommen werden, daß ZIEGENBEIN die Blätter vorwiegend im Sommer von Juni bis September gesammelt hat. Er benötigte 4 bis 13 Frösche für seine Untersuchungen und führte gelegentlich auch Digitoxin-Bestimmungen nach KELLER durch (152). In einer Übersichtstabelle wurden Digitoxingehalt und Giftwert für 100 g Froschgewicht parallel angegeben (153).

In 6 Thesen faßte ZIEGENBEIN seine Ergebnisse zusammen:

- „1. Die Wirkung der Digitalissorten ist ganz verschieden. Es ergeben sich Differenzen von 100 - 200 % und mehr.
2. Standort und Rasse üben einen großen Einfluß auf den Wirkungswert aus.
3. Das Auslesen der Blätter ist von großer Wichtigkeit.
4. Mehrjährige Aufbewahrung drückt den Wirkungswert stark herab (Versuche 13 + 14).
5. Pulver verliert schon nach kürzerer Aufbewahrung an Wirksamkeit (Versuche 11 + 12).
6. Der Digitoxingehalt steht in keiner direkten Beziehung zum Giftwert.“ (154).

ZIEGENBEIN erläuterte dazu: „Gerade diese Resultate zeigen, daß die chemische Methode allein zur Beurteilung der *Digitalis*blätter nicht hinreicht,

um nicht zu sagen, daß an ihre Stelle besser eine physiologische treten sollte." (155).

Er war sich dabei der Fehlerquellen bewußt, die beim Umgang mit lebenden Tieren selbstverständlich sind, glaubte aber, daß man bei einer genügend großen Anzahl von Einzelversuchen ausreichend übereinstimmende Resultate erzielen konnte. „Dem Wunsche Prof. GOTTLIEBs und FRAENKELs, Digitalisblätter mit eingestelltem Titer in den Apotheken einzuführen, werde ich gemeinsam mit Dr. SIEBERT binnen kurzem nachzukommen suchen." (156).

Auch ALBERT FRAENKEL im pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg, wo er bei Prof. GOTTLIEB arbeitete, war der Ansicht, daß die chemische Analyse allein nicht imstande war, die Frage des wirklichen pharmakologischen Wirkungswertes galenischer Digitalispräparate zu entscheiden (157). Ein besseres Maß war für ihn der physiologische Versuch:

„Für die Digitaliskörper haben wir in dem systolischen Stillstand des Froschherzens einen ..... geradezu idealen Maßstab für die Wertbestimmung." (158). Nach FRAENKEL hängt der zeitliche Eintritt des Herzstillstandes ab von Stärke und Menge der Substanz. Die allgemeine Vorstellung, *Rana temporaria* reagiere stärker als *Rana esculenta*, hielt er für falsch, verwendete aber dennoch, um vermeidbare Fehler auszuschließen, stets die gleiche Spezies und gleiches Geschlecht.

Die Begrenzung der Versuchsdauer auf 1 h wurde von FRAENKEL damit begründet, daß ein Stillstand, wenn er nicht innerhalb der ersten 2 h eintrat, kaum noch zu erwarten war. Injiziert wurden immer etwa gleichbleibende Mengen zwischen 1 und 2 ccm in die Lymphsäcke. Die Frösche wurden gewogen, die steigende Dosierung in absoluten Mengen sowie umgerechnet auf 100 g Frosch angegeben. Die Dosis, die innerhalb einer Stunde systolischen Stillstand des Herzens hervorrief, wurde ebenfalls pro 100 g Frosch angegeben. Im günstigsten Fall brauchte FRAENKEL 3 bis 4 Frösche, um in wenigen Stunden den Wirkungswert zu ermitteln (159).

Er fand zwischen den geprüften Präparaten Unterschiede von 100 : 275 % in der Wirksamkeit bei Infusen, bis 100 : 6000 % bei Strophanthustinkturen.

FRAENKEL glaubte, daß die einzelnen Tierarten zwar verschieden auf die Digitaliskörper reagieren, „bei der gleichen Tierart aber wirkt immer dasjenige Präparat stärker, das sich auch an einer anderen Spezies als das stärkere erwiesen hat" (160). Davon überzeugte er sich durch Vergleichsversuche an Katzen.

Von FRAENKEL stammte der Vorschlag, daß die Industrie mit Hilfe einer solchen Methode galenische Produkte mit bestimmtem Titer auf den Markt bringen oder aber der Staat - wie für Heilseren - auch für Digitalispräparate Prüfstellen einrichten sollte (161).

Im gleichen Jahr (1902) wurde die Arbeit von L. W. FAMULENER und A. B. LYONS in Amerika veröffentlicht (162). Die Autoren waren zu ihren Untersuchungen ermuntert worden durch die Ergebnisse von ARNOLD und WOOD (163), die mit ihren Experimenten an Warmblütern gezeigt hatten, daß man quantitative Ergebnisse von ausreichender Genauigkeit für den praktischen Bedarf der Wertbestimmungsmethoden an Tieren erhalten konnte. „Ziel unserer Untersuchung war, festzustellen, ob brauchbare Ergebnisse nicht auch an einfacheren Tieren in niedrigerer Ordnung zu gewinnen sind und ob - unter gleichbleibenden Bedingungen - die Wirkung eines immer gleichen Pharmakon auf Tiere immer der gleichen Spezies immer quantitativ gleich bleiben würde.“ (164).

Die Versuche von FAMULENER und LYONS waren folgendermaßen angeordnet: Ein gesunder Frosch von durchschnittlichem Gewicht, also etwa 40 g, wurde ausgesucht und sorgfältig gewogen. Eine genau abgemessene Portion der zu testenden Lösung wurde mit Hilfe einer Pipette, die eine dünne Spitze hatte, durch den Mundboden unter der Zunge direkt in den vorderen Lymphsack des Tieres gebracht. Dabei wurde auf gleichbleibenden Alkoholgehalt der Lösungen geachtet.

„Nach Ablauf einer Stunde wird der Thorax des Frosches eröffnet, um das Herz darzustellen. Wenn dieses schon vollständig gelähmt ist, war die Dosis zu stark; wenn es noch pulsiert, war sie zu schwach. Wenn aber die Dosis das Minimum darstellt, das nach einer Stunde paralyisiert, findet man die typischen Bedingungen: Die Spitze des Ventrikels ist gelähmt, aber an der Basis findet gelegentlich eine sehr schwache Kontraktionswelle statt, die nur an einer Farbwelle zu erkennen ist, die gewöhnlich ihren Ursprung an der linken Basis des Ventrikels hat und dann über den Ventrikel läuft, während die Vorhöfe stark erweitert sind, aber immer noch regelmäßig weiterschlagen. Die Dosis, die diese Bedingungen bei einem 40 g Frosch nach 60 min schaffte, nannten wir „Minimaldosis“. Wenn das Froschgewicht von dem „Standardgewicht“ abwich, mußte die verwendete Menge entsprechend umgerechnet werden, was nach der Dreisatzrechnung recht einfach ist.

Wir mußten etwa 6 - 10 Frösche opfern, um dieses Ergebnis zu erhalten, und 4 weitere braucht man, um das Ergebnis zu untermauern. Wahrscheinlich

sind nicht alle Frösche gleich empfindlich, aber die Unterschiede sind sicher geringer als bei Warmblütern. Von 12 gesunden Fröschen werden nicht mehr als 1 oder 2 um höchstens 10 % in der mittleren Empfindlichkeit nach oben oder unten schwanken.

Als Ergebnis zahlreicher Testungen des deutschen Digitalin (Merck) ergab sich 0,9 mg als durchschnittliche „Minimaldosis“. 4 oder 5 verschiedene Testserien ergaben genau dasselbe Ergebnis.“ (165).

Zu dem Problem schwankender Empfindlichkeit lesen wir bei FAMULENER und LYONS: „Unter anderen Bedingungen (andere Jahreszeiten zum Beispiel) erhält man vielleicht ein anderes Bild. Um der Möglichkeit zu begegnen, daß Frösche irgendeiner Testserie über oder unter der mittleren Empfindlichkeit liegen, empfiehlt es sich, einem der Frösche die „Minimaldosis“ zu geben, die bei früheren Experimenten gefunden wurde, einem anderen 10 % mehr und einem dritten 10 % weniger davon. Sollte diese Prüfung eine Abweichung von der üblichen Empfindlichkeit zeigen, so müßte man für diese bestimmten Frösche ein neues Minimum festlegen und unsere anderen Testergebnisse entsprechend korrigieren. Würde man z. B. als neues Minimum 0,8 statt 0,9 mg finden, so müßten alle mit diesen Fröschen erhaltenen Ergebnisse um ein Achtel vergrößert werden, um sie auf den gewöhnlichen Standard zu bringen.“ (166).

FAMULENER und LYONS haben also für eine Art laboreigenen Standard gesorgt.

Tatsächlich haben die beiden Untersucher Abweichungen von der mittleren Empfindlichkeit zunächst nur bei offensichtlich kranken Fröschen festgestellt. Die Ergebnisse von wiederholten Experimenten mit derselben Medikamentenprobe stimmten sogar mehr miteinander überein als die Ergebnisse chemischer Gehaltsbestimmungen solcher pflanzlicher Präparate wie Opium und Nux vomica.

Zu den engagiertesten Forschern auf dem Gebiet der physiologischen Wertbestimmung mit der Froschmethode gehörte C. FOCKE in Düsseldorf, der sich von der Jahrhundertwende bis etwa 1930 in zahlreichen Einzeldarstellungen mit allen Problemen zu diesem Komplex befaßt hat (167).

FOCKE hatte seit dem Jahre 1892 im Kreise Mettmann Patienten mit Kreislaufstörungen behandelt. Dabei wandte er sehr häufig Digitalis an, hatte jedoch oft bei Patienten, die weiter entfernt wohnten, nicht die Gelegenheit, die Wirkung seiner Behandlung zu kontrollieren. Um in solchen Fällen den

Patienten keinen Schaden zuzufügen, versuchte er, das Präparat so zu dosieren, daß er die kleinsten Dosen gebrauchte, die eben noch wirkten. „Wie hoch solche sein müssen, steht nicht in den Lehrbüchern.“ (168).

FOCKE versuchte, das Problem zu lösen, indem er seine Klientel in zwei Gruppen teilte: Schwächliche Erwachsene – kräftige Erwachsene. Je nach Einordnung in die erste oder die zweite Gruppe bekamen die Patienten immer eine bestimmte Dosis des Medikaments, welche nur bei den Schwächlichen noch etwas nach unten, bei den Kräftigen etwas nach oben variiert wurde.

FOCKE machte gewissenhaft Notizen über seine Behandlung; wenn ihm irgendetwas über die Wirkung mitgeteilt wurde, schrieb er es auf. Als er drei Jahre später seine Unterlagen über insgesamt etwa 30 Fälle durchsah, fand er zu seiner Verwunderung, daß die im Prinzip in immer gleicher Menge gegebene Arznei offensichtlich in Abhängigkeit von der Jahreszeit verschieden stark gewirkt hatte. Und zwar hatte sie jeweils in den 3. Jahresquartalen immer gut gewirkt, „dagegen war in den 1. und 2. Quartalen (also jedesmal von Januar bis Juni einschließlich) eine deutliche Wirkung keimnal erkennbar. Sollte das in allen drei Jahren lediglich ein Zufall sein?“ (169).

Auf der Suche nach einer Erklärung für dieses Phänomen hielt FOCKE auch Rücksprache mit den ihn beliefernden Apothekern und stellte fest, daß es keine Vorschrift darüber gab, in welchem Monat die Digitalisblätter gesammelt oder in der Apotheke gegen neue ausgetauscht werden mußten. Der Zeitpunkt der Blättererneuerung lag bei einem Apotheker Anfang Juli, bei einem anderen Anfang August. Darin glaubte FOCKE die Erklärung für die Wirkungsunterschiede gefunden zu haben: „Denn in den Monaten nach der Blättererneuerung war die Wirkung am stärksten gewesen und in dem halben Jahr vor der Erneuerung am schwächsten.“ (170).

FOCKE versuchte nun, die Stärke seiner Digitalisrezepte nach der Jahreszeit auszurichten. „Wenn also nicht lange nach dem Blätterwechsel eine Digitalisverordnung nötig wurde, so erniedrigte ich die früheren Dosen noch um ein Geringes; dagegen erhöhte ich sie im Winter und Frühling, vorsichtig tastend, immer mehr, bis ich schließlich im Jahre 1898 bei einer stufenartigen Reihe von Dosen stehen blieb, die ich seitdem nur noch nach der Individualität der Patienten variierte.“ (171). Nach diesem System schwankten die von FOCKE im Laufe eines Jahres gegebenen Dosen erheblich, die Dosierung stieg von Monat zu Monat bis zum Oktober auf das Vierfache ihrer anfänglichen Höhe. Dennoch glaubte FOCKE, damit eine stets gleichmäßige Wirkung von mittlerer Stärke zu erreichen, wobei allerdings das „Individualisieren“ nach wie vor notwendig blieb.



Um seine Methode allgemein praktikabel zu machen, schlug FOCKE vor, daß in Orten, in welchen mehrere Apotheken für die Abgabe der Digitalisblätter an den Patienten in Frage kamen, auf den Rezepten jeweils verschiedene Dosen angegeben werden sollen, je nach dem, ob die Blätter vom Vorjahr oder frisch waren.

FOCKE wollte die von ihm festgestellte Tatsache, daß die Kraft der Digitalisblätter alljährlich in einem Verhältnis von durchschnittlich 4 : 1 schwankte, nicht nur durch sorgfältige Untersuchungen der Kasuistik, sondern auch durch zahlreiche Tierversuche bestätigen. Eine ausführliche Mitteilung dieser Tierversuche erfolgte im Jahre 1903 (172):

Für FOCKE stand fest, daß die braunen Landfrösche für die Untersuchungen am besten geeignet waren. Er benutzte zunächst eine variierte Methode nach ZIEGENBEIN (173). Unterschiede zu ZIEGENBEIN bestanden allerdings in der Herstellung des Auszuges, den FOCKE nicht nach der MEYERschen Methode als alkoholischen, sondern als wässrigen Aufguß herstellte. Das Infus wurde spätestens einige Stunden nach seiner Herstellung untersucht, und zwar, indem es in die Oberschenkellymphsäcke injiziert wurde, „nachdem das Herz des in der üblichen Weise befestigten Frosches unter Vermeidung von Nebenverletzungen und Blutungen freipräpariert worden ist“ (174).

Grundsätzlich neu war FOCKEs rechnerische Bearbeitung der Untersuchungsergebnisse: Er entwickelte als Wert „V“ für „Virulenz“ oder „Valor“ aus den Variablen p für das Gewicht, d für Dosis und t für die erforderliche Zeit nach der Formel

$$V = \frac{p}{d \times t}$$

den Giftwert eines Infuses.

Was die Frösche betraf, hielt FOCKE auch den Ernährungszustand und die Jahreszeit für bedeutsam und benutzte die Tiere nur in der nach seiner Ansicht günstigsten Jahreszeit von Ende Juli bis Anfang Oktober. An innerhalb dieser Zeitspanne verwendeten Tieren konnte er dann keine Unterschiede in der Erregbarkeit des Herzens mehr entdecken. Die im Keller aufbewahrten Frösche wurden bereits vormittags in das Zimmer gebracht, in welchem sie am Abend untersucht wurden; dieses Zimmer sollte 17° Raumtemperatur haben.

Einen Unterschied in der Reaktionsfähigkeit zwischen den Geschlechtern konnte FOCKE nicht finden.

Für die Anwendung seiner Formel

$$V = \frac{p}{d \times t}$$

machte FOCKE folgende Einschränkung: Der Herzstillstand mußte frühestens nach 10 und spätestens nach 30 - 35 min eingetreten sein, weil die Werte für t sonst zu extrem lagen und V keinen repräsentativen Wert mehr ergab.

„Die jeder Wertbestimmung zugrunde liegende Beziehung zwischen Dosisgröße und Zeitdauer ist bei minimalen ebenso wie bei maximalen Dosen ganz unzuverlässig und hat nur bei Drogen von mittlerer Stärke die erforderliche ausreichende Regelmäßigkeit.“ (175).

Ein Befund, bei dem man dennoch einmal die Grenzen von 10 und 35 min überschritt, war durch einen weiteren Versuch mit entsprechend schwächerer oder stärkerer Dosis zu ersetzen.

FOCKE fand mit seiner Methode, die er die „Methode der mittleren Zeit“ nannte, Abweichungen, die 8 % nie überstiegen. Damit fand er sie wesentlich sicherer als die von ZIEGENBEIN benutzte Methode, die er die Methode der „maximalen Zeit“ nannte. An ZIEGENBEINs und auch an FRAENKELs Methode kritisierte FOCKE, daß in beiden Fällen bei der Suche nach der kleinsten Herzstillstand erzeugenden Dosis seine Maximalzeit von 35 min zum Teil weit überschritten wurde, was ihm teilweise auch die starken Schwankungen erklärte, die bei ZIEGENBEIN und FRAENKEL vorkamen (176).

Bei seinen Untersuchungen hatte es sich FOCKE unter anderem zur Aufgabe gemacht, die Ursachen für die Stärkeunterschiede der officinellen Digitalisblätter auffindig zu machen und vermutete als verantwortlich dafür:

- a) den Standort der Pflanze,
- b) das Entwicklungsstadium der Pflanze,
- c) das Alter der getrockneten Blätter,
- d) die Beeinflussung durch Tageslicht und
- e) Beschädigung durch die Feuchtigkeit der Blätter und der Luft (177).

FOCKE gab deshalb auch genaue Angaben über die Maßnahmen, die zur Aufbewahrung von Digitalis zu ergreifen waren:

„Jeder beim Droghändler eintreffende Blätterposten ist bei künstlicher Wärme, jedoch unter Vermeidung einer an 100° heranreichenden Temperatur möglichst rasch so weit zu trocknen, daß der Wassergehalt unter 1,5 % beträgt. Darauf werden die Blätter nach Entfernung der dickeren Stiele bei an-

dauernder trockener Wärme grob gepulvert. Für das Pulver wird von sachverständiger Seite an Fröschen der Giftwert bestimmt. Dann werden die verschiedenen Posten je nach ihrem Giftwert maschinell gleichmäßig gemischt, so daß jede Mischung einen mittleren Wert von etwa 5 - 6 V besitzt. Das Pulver braucht nur in der einen groben Form hergestellt zu werden, weil es als solches unmittelbar zur Infusbereitung zu benutzen ist und bei seiner völligen Trockenheit auch ohne weitere Vorbereitung zu der einzelnen Pulver- und Pillenanfertigung vom Apotheker feiner gepulvert werden kann. Es ist nach der Mischung sofort in durchsichtige Gläser zu füllen, die nur ein mäßiges Quantum, z. B. 50 g fassen sollen, damit der Inhalt beim Verbrauch nicht zu häufig mit der Luft in Berührung kommt. Die Gläser sind sogleich luftdicht zu schließen, ihre Aufschrift mit dem Datum und dem Giftwert zu versehen. Hieraus ergibt sich, daß in den Apotheken die „ganzen“ Digitalisblätter überhaupt fortfallen müßten und überall ersetzt werden sollten durch die „grob gepulverten“ Digitalisblätter, *Folia digitalis pulverisata*, die in der beschriebenen Weise präpariert und konserviert sind.“ (178).

Später stellte FOCKE in der Ärzteschaft ein zunehmendes Interesse an der Digitaliswertbestimmung fest und veröffentlichte deshalb seine neuen Untersuchungsergebnisse ausführlicher (179). Er machte jetzt genauere Angaben zu seiner Untersuchungsmethode, die wieder etwas variiert worden war: Die Frösche (*Rana temporaria*) wurden frühestens von Ende Juni an gesammelt; die Tiere kamen in den Keller, in einen mit Zinkblech ausgekleideten Kasten, dessen Boden mit Wasser bedeckt war. Das Wasser wurde in der ersten Zeit mindestens täglich erneuert. Zur Untersuchung kamen die Tiere nicht vor dem dritten Tag ihrer Gefangenschaft. An diesem Tag wurden die zur Untersuchung bestimmten 4 - 6 Exemplare wenigstens sechs Stunden vorher in einigen Einmachgläsern in das höchstens 17° haltende Zimmer auf den Fußboden gestellt. In der geeigneten Jahreszeit von Juni bis September wurde keine Trennung nach Geschlechtern vorgenommen.

Das 10 %ige Infus wurde vor Licht geschützt gehalten und spätestens einige Stunden nach der Herstellung folgendermaßen untersucht: Der Frosch wurde auf einem Brettchen befestigt, aus der vorderen Brustwand wurde ein Streifen entfernt; danach wurde der Herzbeutel gespalten, wobei keine Blutung vorkommen sollte. Durch leichten Fingerdruck auf das Abdomen wurde der Kammerteil des Herzens durch die Öffnung gedrückt, wo er genau beobachtet werden konnte. Dann erfolgte die Injektion des Infuses in beide Oberschenkellymphsäcke, z. B. je 0,3 ccm. Würde die Gesamtmenge in nur einen Lymphsack injiziert, bestünde die Gefahr, daß aus der Stichöffnung wieder Flüssigkeit austreten könnte. Zur Feststellung der gesuchten Dosis brauchte FOCKE 5, selten 6 Frösche. Jedenfalls mußten 4 Versuche

Der Untersuchung		Rana tempor.			Von Blättern der gleichen Qualität, Dosis des Infuses (in ccm = d	Zeit bis zum systolischen Dauerstillstand (in Min.) = t	$\frac{p}{d \cdot t} = v$	Giftwert V	
No.	Datum 1903	Herkunft	Geschlecht	Gewicht (in Gramm) = p					
VIIIa	30. Juni	Jetzt bei Mettmann gefangen (Sendung 3)	w.	31	0,7	13	3,4	4,37	Durchschnitt 4,36.
b			"	28	0,75	8	4,6		
c			m.	34½	0,7	(5)	—		
d			w.	30	0,6	9½	5,5		
e			"	36	0,6	15	4,0		
IXa	2. Juli	Jetzt bei Niederkassel, linksrhein., frisch gefangen	w.	43	0,6	(34)	—	4,30	
b			"	42½	0,6	20	3,5		
c			"	52	0,7	18	4,1		
d			m	38	0,6	14½	4,3		
e			w.	47	0,8	11	5,3		
Xa	21. Juli	Jetzt bei Mettmann gefangen (Sendung 4)	w.	27	0,5	(6½)	—	4,17	
b			"	17½	0,3	17	3,8		
c			m.	24	0,4	13	4,6		
d			"	18	0,35	12½	4,1		
e			w.	15	0,25	14	4,2		
XIa	7. August	Vor 12 Tagen bei Mettmann gefangen (Sendung 5)	w.	15	0,3	11	4,5	4,57	
b			m.	18	0,35	11½	4,4		
c			w.	15	0,35	8½	5,0		
d			m.	52	0,75	(25)	—		
e			w.	15½	0,3	11½	4,4		
XIIa	25 August	Vor einigen Tagen bei Kaiserswerth gefangen	w.	29	0,65	9	5,0	4,35	
b			"	26½	0,5	12	4,0		
c			"	24	0,6	9	4,4		
d			"	33	0,75	10½	4,0		
XIIIa	16. Septbr.	Jetzt bei Mettmann gefangen (Sendung 7)	m.	26	0,5	1 ½	4,2	4,45	
b			w.	30½	0,65	10	4,7		
c			m.	27	0,5	11	4,9		
d			w.	22	0,4	13½	4,0		
XIVa	1. Oktbr.	Jetzt bei Mettmann gefangen (Sendung 8)	m.	21½	0,5	8	5,3	5,10	
b			"	22	0,5	8	5,5		
c			"	23	0,6	7	5,4		
d			"	31½	0,8	9	4,3		
XVIIIa	19 Oktbr.	"	w.	95	1,3	13½	5,4	5,00	
b			m.	28	0,5	13½	4,1		
c			w.	27	0,45	9½	6,3		
d			"	30	0,55	13	4,2		
XIXa	30. Oktbr	"	w.	27	0,5	10½	5,0	4,85	
b			"	29	0,45	13	4,9		
c			"	24	0,45	11½	4,6		
d			m.	14	0,3	9½	4,9		
									Durchschnitt 5,00.

Tafel 7: Versuchsprotokolle von C. FOCKE  
Aus: FOCKE (38)

mit Zeiten zwischen 7 und 20 Minuten vorliegen. Nach dem Eintritt der Dauersystole wurde das Tier durch Zerstörung der Medulla getötet und dann gewogen. Zur Berechnung wurden dann nur die Zahlen derjenigen Tiere herangezogen, deren Dauersystole nach 7 bis 20 Minuten eingetreten war. Für jedes Tier wurde der Giftwert V nach

$$V = \frac{p}{d \times t}$$

berechnet und dann aus allen V der Mittelwert gebildet. Typische Versuchsprotokolle zeigt Tafel 7. FOCKEs ursprüngliche Zeitspanne von 10 bis 35 min wurde also auf 7 bis 20 min geändert. Veranlaßt wurde FOCKE dazu durch theoretische Berechnungen, die er in einer Tabelle (180) (Tafel 8) wiedergegeben hat und die zeigen sollten, daß die Giftwerte bei Zeiten zwischen 7 und 20 min näher beieinander lagen. Einen weiteren Vorteil der Beschränkung auf 7 bis 20 min sah FOCKE in der erheblich kürzeren Dauer der Versuche und der weniger langen Qual für das Tier. Außerdem ließ sich bei Versuchen mit langer Vergiftungszeit oft eine definitive Bestimmung des Endpunktes nicht mehr durchführen, weil sich hier das Endstadium manchmal mit langen Pausen hinzog.

FOCKE trat nicht nur für eine Vereinheitlichung der Bestimmungsmethode ein, sondern auch für eine einheitliche Bezeichnung des Giftwertes. So sollte die alte, unpraktische Formulierung: Giftwert = soundsoviel Gramm pro hundert Gramm Froschgewicht, die sich umgekehrt proportional zum wahren Wert der Blätter bewegte, überall durch seine Bezeichnung ersetzt werden, nämlich das V, welches proportional zum Blätterwert stieg.

Wie ZIEGENBEIN (181), FRAENKEL (182) und andere, so wollte auch FOCKE durchsetzen, daß in allen Apotheken Digitalisblätterpulver gleicher Stärke geführt wurde und er hielt eine durch die Pharmakopoe vorgeschriebene Kontrolle für unumgänglich.

Solche durch physiologische Untersuchungen „eingestellte“ oder „titrierte“ Blätterpulver wurden bis 1903 von SIEBERT und ZIEGENBEIN in Marburg, von der Universitätsapothek in Rostock und von der Firma CAESAR und LORETZ in Halle a. d. Saale geliefert (183). Auf der Suche nach einer geeigneten Methode war FOCKE auch auf die KELLERSche Digitoxinbestimmung (184) gestoßen, weil auch er ursprünglich an einen Zusammenhang zwischen Digitoxingehalt und Wirksamkeit geglaubt hatte. Später wurde er durch verschiedene Berichte (185) in dieser Ansicht nicht bestätigt, und schließlich zeigten seine eigenen Untersuchungen aus den Jahren 1901 und 1902, die er zusammen mit dem Apotheker Dr. FROMME aus Halle a. d. Saale durch-

Tabelle I.

Bei einem Frosch von 30 g Gewicht (p)									
würde bei einer Blattersorte A mit Giftwert 5,0					würde bei einer Blattersorte B mit Giftwert 3,5				
nach einer ccm-Dosis (d) des 10%igen Infuses von	die Zeit (t) betragen Minuten ungefähr von — bis —	durchschnittlich	folglich wäre $v = \frac{p}{d \cdot t}$	Zur Bestimmung	nach einer Dosis (d) des 10%igen Infuses von	die Zeit (t) betragen Minuten ungefähr von — bis —	durchschnittlich	folglich wäre $v = \frac{p}{d \cdot t}$	Zur Bestimmung
				Dennach durchschnittlicher Gesamtwert V					Dennach durchschnittlicher Gesamtwert V
0,125 (Minimaldosis)	50—100—∞	Die höheren Zeiten ganz unregelmäßig	(durchschnittlich etwa 2,5) (etwa 3,2)	Zu unregelmäßig	0,18 (Minimaldosis)	50—100—∞	Ganz unregelmäßig	(durchschnittlich etwa 1,7) (etwa 2,0)	Zu unregelmäßig
0,2	25—70	26	(3,8)	Allein brauchbar	0,3	25—70	30	(2,5)	Allein brauchbar
0,3	17—35	16	4,7		0,4	20—40	24	(2,7)	
0,4	12—20	12	5,0		0,5	16—28	16	3,1	
0,5	10—14	9½	5,2		0,6	12—20	12½	3,4	
0,6	8—11	8	5,3		0,7	10—15	10½	3,5	
0,7	7—9	6¼	6,0	Zu unregelmäßig	0,8	9—12	9	3,7	Zu unregelmäßig
0,8	5½—7	5	6,1—4,0		0,9	8—10	8	3,7	
0,9—1,5 (auf ½ Volumen eingedampft)	5				1,0	7—9	6	(4,5)	
					1,1	5—7	5	(5,0—3,0)	
					1,2—2,0 (auf ½ Volumen eingedampft)	5	5		

Tafel 8: C. FOCKEs Berechnungen zum Optimum der Zeit (t)  
Aus: FOCKE (38) S. 673

führte, daß beim Altern der Blätterproben zum Teil der Giftwert erheblich sank, wogegen der Digitoxingehalt nur unbedeutend abnahm (186).

Bei einer ähnlichen Untersuchung von 10 Proben der Firma CAESAR und LORETZ im Jahre 1903, an der wieder FROMME teilnahm, benutzte FOCKE interessanterweise eine Art „Blindstudie“, indem zunächst keiner von den Ergebnissen des anderen wußte und an einem vereinbarten Tage dann beide gleichzeitig ihre Resultate abschickten (Tafel 9). Das Ergebnis bezüglich des Verhältnisses V zu Digitoxin war enttäuschend, und zwar schwankte es „nach jeder Beziehung mit der größten Regellosigkeit!“ (187). Daraus ergab sich, daß eine Digitoxinbestimmung wegen ihrer Ungenauigkeit für eine Aufnahme in die Pharmakopoe ungeeignet war. FOCKE plädierte daher für das Novum einer physiologischen Kontrollmethode in der Pharmakopoe.

Ab 1903 erschienen etliche Arbeiten aus FOCKEs Feder (188), in denen er immer wieder auf die Vorteile seiner Methode und die Notwendigkeit ihrer Aufnahme in die Pharmakopoe hinwies. Einige davon lesen sich gar wie Pamphlete gegen alle anderen Prüfverfahren, deren Nutzlosigkeit er bewiesen zu haben glaubte.

Die Methode von FOCKE fand tatsächlich auch weite Verbreitung, u. a. wurde sie z. B. von LÖWY (189) und LUTZKAJA (190) für Wertbestimmungen eingesetzt.

Der Sinn physiologischer Prüfungen wurde erstmals wieder stark in Frage gestellt von H. F. MOSCHKOWITSCH in Cherson, der erhebliche Unterschiede in der Empfindlichkeit bei Fröschen feststellte (191).

Auch MOSCHKOWITSCH bestimmte zunächst nach der KELLERSchen und von FROMME modifizierten Methode den Digitoxingehalt seiner Blätter auf chemische Weise und fand eine gute Übereinstimmung zwischen dem Ergebnis der KELLERSchen und dem der FROMMESchen Methode.

Die Tierversuche wurden an Winterfröschen der Art *Rana temporaria* durchgeführt, und zwar zunächst mit dem kristallinen Digitoxinum MERCK, wovon mit warmem 50 %igem Alkohol eine 0,1 %ige Lösung hergestellt wurde. Diese Lösung wurde in verschiedenen genau abgemessenen Mengen in den Lymphsack des rechten Oberschenkels des Frosches injiziert. Zur Feststellung der Wirkung wurde das Sternum sorgfältig entfernt, das Herz jedoch nicht freigelegt, um ein Eintrocknen zu verhindern. Bei der Befestigung der Frösche auf dem Brettchen wurde darauf geachtet, daß die Tiere möglichst wenig stranguliert wurden, um jede mechanische Zirkulationsstörung zu vermei-

Blätterprobe von Caesar & Loretz	Chemische Untersuchung (Fromme)			Physiolog. Untersuchung (Focke)			Verhältnis
	Datum	Wassergehalt ca 14 Tage nach der Ernte (%)	Rein- Digitoxin (%) in den ganz trockenen Blättern	Datum	Zahl d. Frösche	Giftwert V des ganz trockenen Pulvers	Esentspräche 1 V = Digitoxin (%)
I	6. Juli	6,0	0,250	14. Juli 16. " } 19. Aug.	14	2,70	0,090
II	24. "	2,5	0,293	29. Juli	6	4,44	0,066
III	21. "	4,1	0,220	31. "	5	4,92	0,044
IV	16. "	8,5	0,277	14. Aug.	5	6,50	0,042
V	12. "	4,3	0,240	17. "	5	4,80	0,052
VI	21. "	6,2	0,195	15. Sept.	5	3,36	0,058
VII	25. "	5,2	0,330	16. "	4	4,57	0,072
VIII	6. Sept.	3,1	0,265	17. "	5	3,62	0,073
IX	8. "	2,2	0,210	21. "	5	2,96	0,071
X	17. "	1,2	0,200	19. "	6	3,61	0,055

Tafel 9: Vergleich von chemischer und physiologischer Wertbestimmung  
Aus: FOCKE (38) S. 687



den. Die Injektionen wurden mit 0,2 ccm Lösung begonnen und allmählich bis 0,5 ccm gesteigert, was 0,2 bis 0,5 mg Reinsubstanz entsprach. „Die kleinste Dosis dieser verwendeten Mengen ruft den Stillstand des Herzens innerhalb einer Stunde hervor, was auch durch viele frühere Versuche schon nachgewiesen wurde.“ (192).

MOSCHKOWITSCH fand jedoch in den Endresultaten solche Unregelmäßigkeiten, „daß keine Abhängigkeit zwischen der Menge der injizierten Substanz und dem Eintritt des systolischen Herzstillstandes zu verfolgen war. Ich muß gestehen, daß ich von dieser Willkürlichkeit in der Wirkung des Digitoxins höchst überrascht war, und daß dadurch meine Hoffnung, auf dem experimentellen Wege eine genaue Wertbestimmung der Digitalispräparate durchzuführen, einen erheblichen Stoß erlitt.“ (193). Eine vergleichende Versuchsreihe mit amorphem Digitoxin zeigte auch hier die ersten Zeichen der Wirkung des Mittels nach 2 bis 6 Minuten. Daraus zog MOSCHKOWITSCH den Schluß, daß die Resorptionsgeschwindigkeit der beiden Digitoxinarten (amorph und kristallin) gleich groß war. Bezüglich des Eintritts des systolischen Herzstillstandes fand MOSCHKOWITSCH jedoch auch beim amorphen Digitoxin erhebliche Schwankungen. In der Hoffnung, bessere Resultate zu erzielen, machte er dann Versuche mit galenischen Präparaten. Aber auch beim Extractum fluidum konnte er keine Kongruenz zwischen Größe der Dosis und Schnelligkeit des Herzstillstandes konstruieren. Um die Möglichkeit auszuschließen, daß die unbrauchbaren Ergebnisse auf das verwendete Wintermaterial zurückzuführen waren, brach er die Versuche ab und begann im September 1902 erneut mit Sommerfröschen. Dabei stellte er fest, daß diese Tiere von vornherein einen größeren Widerstand gegen die Substanz zeigten. Der Eintritt des Herzstillstandes erfolgte nun allerdings regelmäßiger und weniger willkürlich im Zeitbedarf, aber dennoch sah MOSCHKOWITSCH auch hier noch keine ausreichende Gesetzmäßigkeit in der Wirkung des Mittels.

Auch durch den Vergleich der Mittelwerte anstelle der Einzelwerte wurden die Resultate nicht brauchbarer. Bei weiteren Untersuchungen mit verschiedenen Blättersorten kam MOSCHKOWITSCH immer wieder zu demselben Ergebnis:

Die ersten Einwirkungserscheinungen des Extraktes auf das Froschherz zeigten sich beständig nach 2 bis 5 Minuten, der Schlußeffekt erschien jedoch mit derselben Hartnäckigkeit unregelmäßig wie auch vorher schon.

MOSCHKOWITSCH resümierte resigniert: „Aus dem Mitgeteilten geht wohl die Schlußfolgerung hervor, daß die Wertbestimmung der Präparate der Folia Digitalis auf der physiologischen Prüfung allein nicht beruhen darf und kann.

Damit soll nun nicht gesagt sein, daß diese keinen Wert besitze, sondern es soll nur darauf hingewiesen werden, daß diese Methode der Prüfung eine mangelhafte ist." (194).

Im Durchschnitt hatte MOSCHKOWITSCH eine stärkere Giftwirkung der Blätterpräparationen als des Digitoxin in reiner Substanz gefunden. Dies kommentierte er mit den Worten: „Diese größere Reaktionsfähigkeit des Froschherzens auf die galenischen Präparate ist jedoch an und für sich noch kein Beweis dafür, daß dies beim Menschen auch so sein werde. Dies ist meines Erachtens der schwerwiegendste Einwand gegen die physiologische Wertbestimmung am Froschherzen, weil man hier eine Größe als Maßstab einsetzt, die möglicherweise gar nicht auf das menschliche Herz sich anwenden läßt." (195). Wenn man die Methode dennoch anwenden wollte, so meinte er, müßte man sich darüber einigen, daß nur Tiere eines Geschlechtes, derselben Art, aus einer bestimmten Landesgegend, in einer bestimmten Jahreszeit gefangen und annähernd von demselben Gewicht verwendet werden dürften; „sonst gehen die Schwankungen ins Aschgraue, auch ohne dies werden sie wahrscheinlich derart sein, daß man lieber bei den chemischen Untersuchungen bleibt" (196).

Bei Durchsicht der Literatur muß man allerdings feststellen, daß solche entschiedenen Gegner der physiologischen Wertbestimmungsmethoden, die den chemischen Methoden den eindeutigen Vorzug gaben, die Ausnahme bildeten.

Am isolierten Froschherzen (*Rana esculenta*), aber auch am isolierten Warmblüterherzen der Katze machte A. KAKOWSKI, Praktischer Arzt in Kiew, am Institut für Pharmakologie in Rostock zwischen 1903 und 1905 qualitative und quantitative Vergleichsuntersuchungen von über 30 verschiedenen Stoffen (197). Unter Verwendung der WILLIAMSSchen und LANGENDORFFschen Methode wurden die Substanzen dem Herzen direkt appliziert.

GEORGE BARGER und VERNON SHAW berichteten 1904 über ihre Untersuchungen mit *Rana temporaria*, die das Ziel hatten, chemische und physiologische Methoden miteinander zu vergleichen (198). Dabei kamen diverse Testsubstanzen zur Anwendung. Für die Froschversuche wurden pro Bestimmung 4 - 16 Tiere benötigt, nach Injektion von 1 ccm Lösung des Präparates in den dorsalen Lymphsack wurde anhand des systolischen Herzstillstandes die kleinste tödliche Dosis („M.L.D.") bestimmt. Der Endpunkt mußte innerhalb von 3 Stunden liegen.

Die Untersucher kamen zu der Überzeugung: „Zur Zeit ist die einzige anwendbare Prüfmethode für die Digitalistinktur die physiologische.“ (199).

W. E. DIXON in London verwendete männliche Frösche mit einem Gewicht von 25 g für sein Standardisierungsverfahren (200). Nach Injektion in den dorsalen Lymphsack sollte der Tod des Frosches nach spätestens 1 Stunde eintreten. Seine Standardeinheit waren die „Minims“; die Normdosis, die nach 1 Std. den Tod des Tieres hervorrufen sollte, waren 6 Minims. DIXON schlug vor, daß die zum Verkauf angebotenen Substanzen entsprechende Etiketts mit Wertangaben in „Minims“ tragen sollten.

Auch C. G. SANTESSON benutzte zur Bestimmung der Wirkungsintensität verschiedener Strophanthinpräparate aus schwedischen Apotheken die Froschmethode und das isolierte Froschherz (201). Nach Injektion in den Bauchlymphsack trat bei seinen Fröschen die erwartete Reaktion nach 30 min ein.

WALTHER STRAUB arbeitete zur Erforschung des Wirkungsmechanismus der Digitalisglykoside und der mechanischen Grundlagen der Herzarbeit seit 1905 ebenfalls mit dem isolierten Froschherzen (202). Später wies er auf die Schwierigkeiten hin, die andere außer FOCKE mit dessen Methode hatten (203). Er hielt daher auch für die Standardisierung das isolierte Froschherz für besser geeignet.

In Cambridge verglich um 1906 G. S. HAYNES Digitalis, Scilla und Strophanthus an Katzen und Kaninchen bezüglich ihrer Wirkung – z. B. bei direkter Gabe in den Magen – miteinander (204). Die verabreichten Substanzen standardisierte er vorher am Frosch nach Injektion in den dorsalen Lymphsack. Er verwendete eine zeitlose Methode, bei der die kleinste tödliche Dosis, die noch Herzstillstand hervorruft, ohne Zeitlimit bestimmt wurde. Die Gewichtsangaben wurden allerdings nicht pro g Froschgewicht, sondern pro Frosch gemacht.

In den USA haben sich besonders CHARLES WALLIS EDMUNDS und WORTH HALE von der Universität Ann Arbor, Michigan, mit dem Problem der physiologischen Standardisierung der Digitalispräparate befaßt (205).

CHARLES WALLIS EDMUNDS beschrieb 1907 seine Froschmethode, bei der er pro Bestimmung 2 - 4 Tiere (*Rana virescens*) benötigte, denen die Substanzen subkutan injiziert wurden (206). Der Herzstillstand mußte innerhalb einer Stunde eingetreten sein. Seine Dosisangaben machte EDMUNDS in

ccm/20 g Frosch. Mit dieser Methode hatte er zunächst 16 Tinkturen und Infuse von Digitalis, außerdem Strophanthustinkturen überprüft. Auch er sprach sich für die Festlegung eines nationalen Standards aus.

Zusammen mit WORTH HALE veröffentlichte EDMUNDS 1908 das Bulletin Nr. 48 des US Health Service (207). Die Möglichkeit einer Standardisierung mittels chemischer Methoden wurde von den Autoren grundsätzlich in Frage gestellt, und sie befanden sich damit in Übereinstimmung mit ZIEGENBEIN, FAMULENER und LYONS, BARGER und SHAW, FOCKE und FROMME, REED, VANDERKLEED und anderen, die sich alle mit dem Vergleich chemischer und physiologischer Methoden befaßt hatten (208).

Die experimentelle Arbeit von EDMUNDS und HALE basierte auf der Wahl zwischen 3 Grundtypen in der Methodik der physiologischen Wertbestimmung:

1. „Eine toxische Methode, bei der Frösche, Meerschweinchen oder höher entwickelte Tiere verwendet werden;
2. Eine Methode, bei der das Froschherz benutzt wird, welches in manchen Fällen perfundiert wird, während es in anderen Fällen einfach dargestellt und auf den systolischen Herzstillstand gewartet wird;
3. Methoden, bei denen ein Vergleich angestrebt wird mit Hilfe der relativen Wirkung auf den Blutdruck einiger höherer Tiere.“ (209).

Es war nun die Aufgabe der Untersucher herauszufinden, ob eine der genannten Methoden vor den anderen deutliche Vorteile hatte, und – noch wichtiger – ob man mit den verschiedenen Methoden irgendwie ähnliche Ergebnisse erzielte. Testsubstanzen waren einige nach Vorschrift der Pharmakopoe hergestellte Präparate und auch verschiedene nach speziellen Methoden hergestellte Zubereitungen, die teilweise vom Hersteller „geprüft und physiologisch getestet“ waren.

Als M.L.D.-Testmethoden (Gruppe 1) wurden solche an Mäusen, Meerschweinchen, Katzen und Fröschen untersucht.

Bei der Bestimmung der tödlichen Dosis an Fröschen wurde im wesentlichen HOUGHTONs Methode übernommen. Die Frösche waren dabei von der Gattung *Rana pipiens*. Als die wesentlichen Faktoren, die bei diesen Methoden die Ergebnisse beeinflussten, fanden EDMUNDS und HALE: Das Gewicht und das Geschlecht der Tiere sowie die Jahreszeit der Untersuchung.

Die Froschherzmethoden (Gruppe 2) wurden von EDMUNDS und HALE ebenfalls einer besonderen Prüfung unterzogen: „Hier gibt es mehrere Vari-“

ten, deren Endreaktion immer der Stillstand des Froschherzens in Systole ist, wobei die Hauptunterschiede in den Methoden bei dem Zeitfaktor liegen.” (210).

Unter der sog. „Ein-Stunden-Methode” verstand man folgendes Vorgehen: Die Frösche wurden in einer bestimmten Weise aufgehoben, gewogen und mit einer solchen Dosis vergiftet, daß das Herz nach genau 60 min in vollständiger systolischer Kontraktion vorgefunden wurde. Dabei wurde die zu prüfende Substanz sorgfältig auf eine Menge von etwa 0,5 - 1 ccm gebracht und mit Hilfe einer Glaspipette in den vorderen Lymphsack gespritzt. Kurz bevor die Stunde abgelaufen war, wurde der Frosch entmarkt, auf ein Froschbrett gebunden und das Herz exponiert. In zunehmend enger werdenden Grenzen näherte man sich dann der kleinsten Dosis, die nach genau 1 Stunde wirksam wurde. Dazu brauchte man gewöhnlich 3 Serien von Fröschen, manchmal auch 4 oder 5 (210).

Außerdem gab es die FOCKEsche Methode, die von EDMUNDS und HALE in wichtigen Einzelheiten abgewandelt wurde. So wurden alle Frösche von vornherein entmarkt, was bei FOCKE erst geschah, wenn die Experimente abgeschlossen waren. Das Entmarken wurde aus rein humanitären Gründen für erforderlich gehalten, „und wenn es die Genauigkeit der Methode beeinträchtigt, dann ist diese Methode eben nicht anwendbar” (211). Zur Vermeidung von Blutverlusten wurde dieser Vorgang sehr vorsichtig durchgeführt, das dazu verwendete Stückchen Holz wurde in der Hirnschale belassen, um eine Nachblutung zu vermeiden.

Die zweite Modifikation der FOCKEschen Methode betraf die Beobachtung des endgültigen Herzstillstandes. Da dieser sehr schwer zu bestimmen war, wurde anstelle des Herzstillstandes das Stillstehen des Kreislaufes mit einem Mikroskop über den Schwimmhäuten beobachtet. Auch dies war jedoch nicht immer voll befriedigend, da manche Tiere in den Schwimmhäuten nur geringe Blutbewegungen zeigten und überdies jeder Blutverlust von auch nur einem Tropfen die Durchblutung an dieser Stelle reduzierte. Auch mußte nach Auswahl eines günstigen Feldes für die Beobachtung des Blutstromes die Richtung des Blutflusses notiert werden, da gelegentlich nach dem Stillstand das Blut eine Zeitlang in die umgekehrte Richtung floß, was, wenn man die ursprüngliche Stromrichtung nicht festgehalten hatte, zu dem Irrtum führen konnte, die Zirkulation habe nicht stillgestanden.

Sowohl der Herzstillstand als auch der Kreislaufstillstand bei der FOCKEschen Methode wurden von EDMUNDS und HALE als ziemlich ungenaue Endreaktion angesehen. Die Untersucher hielten es nicht für günstig, die Zeit-

spanne bis zum Herzstillstand irgendwo zwischen 7 und 20 min zu erwarten, weil die erhaltenen Werte dann zu sehr schwankten. Man sollte deshalb beim Vergleich zweier Präparate den Herzstillstand z. B. auf eine mittlere Zeit von 10 oder 12 min festlegen. „Dennoch, auch mit diesen Vorsichtsmaßnahmen, glauben wir, daß diese Methode größere Schwankungen und Ungenauigkeiten zuläßt als irgendeine andere Methode, die wir anwandten“ (212).

Bei der Perfusionsmethode des Froschherzens schließlich wurde im linken Stamm der Aorta ausgeschnittener Froschherzen eine Kanüle fixiert, eine zweite in der V. cava posterior in der Nähe des Herzens. Das isolierte Herz wurde bei gleichbleibendem Druck mit Ringerlösung perfundiert, der Digitalis in der Stärke einer Tinktur zugefügt war, so daß eine 1 %ige Lösung zustande kam. Dann wurde die Zeit bis zum systolischen Herzstillstand festgehalten (213).

Die an dritter Stelle genannten Blutdruckmethoden wurden an Katzen ausgeführt und sollen später behandelt werden.

Beim Vergleich der Ergebnisse aller untersuchten Methoden fanden EDMUNDS und HALE nur teilweise Übereinstimmung, was sie sich u. a. damit erklärten, daß Digitalis bei Fröschen und Katzen durch eine Wirkung auf das Herz tödlich wirkte, während es bei Mäusen und Meerschweinchen durch Einwirkung auf die Medulla oblongata tötete.

Jedenfalls konnte man nach diesen Resultaten nicht erwarten, daß zwei verschiedene Standardisierungsverfahren für eine Substanz genau die gleiche relative Stärke ermittelten (214). Deshalb forderten EDMUNDS und HALE schon 1908, daß sich die Hersteller international auf eine Methode einigten, wobei sie die Blutdruckmethode an Hunden und Katzen sowie die Bestimmung der M.L.D. am Frosch allen anderen Methoden vorzogen.

Von R. GOTTLIEB in Heidelberg wurde 1908 der Versuch gemacht, die „Froscheinheit“ einzuführen (215). Das war die kleinste Menge einer Lösung, die eine Temporarie von 30 Gramm in 30 Minuten tötete. Die Methode ähnelte der von FOCKE, nach Injektion in die Oberschenkellymphsäcke sollte der Herzstillstand nach 30 - 45 min eintreten. Ab 1914 sprach sich jedoch auch GOTTLIEB für die Verwendung längerer Zeiten bis etwa 1 h aus (216). Für eine einzelne Bestimmung brauchte GOTTLIEB 4 - 15 Frösche.

O. SCHMIEDEBERG benutzte 1910 zur Bestimmung des Wirkungswertes von Digitalisblättern in Straßburg das isolierte Froschherz in Verbindung mit einem WILLIAMS-Apparat (217).

Ein Gegner der Froschmethoden war JAMES BURMANN in Aigle (218). Er untersuchte 1910 die Methoden nach FOCKE und GOTTLIEB und bewies rechnerisch, daß GOTTLIEBs Froscheinheit inhaltlich mit FOCKEs V identisch war, lediglich der Zahlenwert differierte (219). Überhaupt erhielt er mit der Froschmethode „absurde Ergebnisse“ und bezeichnete sie daher als völlig unbrauchbar (220). „Der Frosch ist nützlich zur qualitativen Untersuchung eines Herzmittels, jedoch nicht zur quantitativen. Er ist kein Instrument mit mechanischer Präzision.“ (221). BURMANN sprach sich daher für die Anwendung chemischer Methoden aus und arbeitete auf diesem Gebiet weiter.

ARNOLD HOLSTE in Straßburg verwendete 1910 die Methode von SCHMIEDEBERG mit dem isolierten Froschherzen zur Überprüfung des Wirkungsverlustes bei Digitalisblättern durch die Aufbewahrungszeit (222). Dabei stellte er fest, daß – wie schon SCHMIEDEBERG sagte – die nach FOCKEs Methode hergestellten Infuse nicht alle wirksamen Substanzen enthielten. Er bevorzugte daher die Herstellungsvorschriften von SCHMIEDEBERG.

In einer Dissertation untersuchte MAGNUS GORFEIN, ebenfalls in Straßburg, ob nicht auch *Rana esculenta* unter bestimmten Bedingungen den typischen Herzstillstand regelmäßig zeigte (223). Die dabei gewählte Versuchsmethode entsprach der von SCHMIEDEBERG. Das Ergebnis war, daß die Versuche mit *Rana esculenta* viel unsicherer ausfielen als die mit *Rana temporaria*.

In Anlehnung an das Bulletin Nr. 48 von 1909 (224) veröffentlichte WORTH HALE 1911 das Bulletin Nr. 74 des U. S. Public Health Service (225), eine groß angelegte Studie zu allen Fragen im Zusammenhang mit der physiologischen Wertbestimmung, mit Kurzbeschreibungen der bekanntesten Methoden und eigenen Versuchen zur Prüfung mehrerer Präparate und deren Veränderungen unter Alterung, Aufbewahrung usw. Die Frösche waren hierbei von der Gattung *Rana pipiens*, die Methode entsprach der von FAMULENER und LYONS (226).

CHARLES C. HASKELL überprüfte 1911 verschiedene Methoden und kam zu dem Ergebnis, daß die Einstunden-Froschmethode die sicherste war (227). Später (228) untersuchte er die Frage des Wirkungsverlustes von Digitalistinkturen und fand nach 5 Jahren nur mit der Frosch- und Meerschweinchenmethode einen Verlust der Wirkung, nicht jedoch bei Untersuchungen an Katzen. Seine Folgerung war, daß mit der Länge der Aufbewahrungszeit und dem Alter der Substanz die Resorption aus dem Lymphsack des Frosches immer langsamer wurde.

C. HARTUNG machte 1912 qualitative Bestimmungen von Digifolin mit der Methode am isolierten Froschherzen nach STRAUB (229). Die quantitative Untersuchung führte er nach der ursprünglich von BOEHM mit einer Laufzeit von 30 min beschriebenen Methode durch (230). Die Laufzeit bei der Methode nach FOCKE (10 min) hielt er für zu kurz, denn er glaubte, daß innerhalb dieser Zeit noch keine vollständige Resorption stattgefunden haben konnte.

HARTUNG stellte Wirksamkeitsskalen der untersuchten Substanz mit 4 Wirkungsstufen auf (231); dabei wurde die Zeit bis zum endgültigen Herzstillstand gegen die Konzentration grafisch aufgetragen.

Ein Gegner der FOCKEschen Methode war auch EDMUND WEIS. Er verwendete die Einstundenmethode nach WORTH HALE mit *Rana esculenta* (232).

Bei einem Vergleich zwischen der Einstundenmethode nach HALE und der FOCKEschen Methode gab auch RAPP, Oberapotheker der Krankenhausapotheke zu München (links der Isar), der ersteren den Vorzug (233).

In einer Inauguraldissertation an der Universität Rostock befaßte sich 1914 HERBERT WALTER mit Vergleichen zwischen dem Infus und der Tinktur (234). Dabei untersuchte er den Einfluß des Trocknens, der Aufbewahrungsweise und der Alterung auf die Substanzen. Seine Methode war eine 24-Stundenmethode am Frosch, bei der nach Injektion in den dorsalen Lymphsack als Endpunkt der Tod des Tieres und ein in Systole stehengebliebenes Herz galten.

Dagegen wurde die Froschmethode von HEINRICH BOMHARD, der seine Dissertation im gleichen Jahr an der Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen veröffentlichte, mit Vorbehalten verwendet (235). BOMHARD stellte quantitative und qualitative Wirkungsvergleiche verschiedener Digitalis- und Strophanthuspräparate an und verwendete dazu Frösche der Gattung *Rana temporaria* von ca. 30 g Gewicht. Bestimmt wurde die kleinste wirksame Dosis mit Hilfe kymographischer Aufzeichnungen mit der „ENGELMANNschen Suspensionsmethode“. Bei dieser Methode wird das Herz durch ein Fenster in der Bauchhaut herausgezogen.

Einschränkend stellte BOMHARD fest: „Die Froschmethode ist ein Notbehelf, alle hier gewonnenen Resultate sind mit Vorsicht aufzunehmen.“ (236).

Zufriedenstellende Ergebnisse mit der GOTTLIEBschen Methode, allerdings unter Beachtung der von FOCKE angegebenen Kautelen fand dagegen AN-



TON LEHNERT, dirigierender Bade- und Brunnenarzt in Bad Dürkheim, bei seiner Wertbestimmung einiger Digitalispräparate. Diese Untersuchungen wurden an der Universität Göttingen durchgeführt (237).

Zu einem anderen Resultat kam dagegen C. G. SANTESSON in Stockholm 1915 (238). Er unterzog die Methoden nach FOCKE sowie die Methode am isolierten Froschherzen mit dem WILLIAMSschen Apparat und die nach STRAUB einer kritischen Prüfung. Das Verfahren nach STRAUB variierte er dahingehend, daß die Kanüle in der Vena cava fixiert wurde. Wegen Unsicherheiten bei allen Tiermethoden befürwortete er jedoch letztlich eine Weiterentwicklung der chemischen Wertanalyse.

Zu einem ähnlichen Schluß kam 1915 EDGAR BERRY (239), der zunächst eine Perfusionsmethode des Froschherzens (240) versucht hatte, später jedoch intensiv an einer kolorimetrischen Methode arbeitete (241).

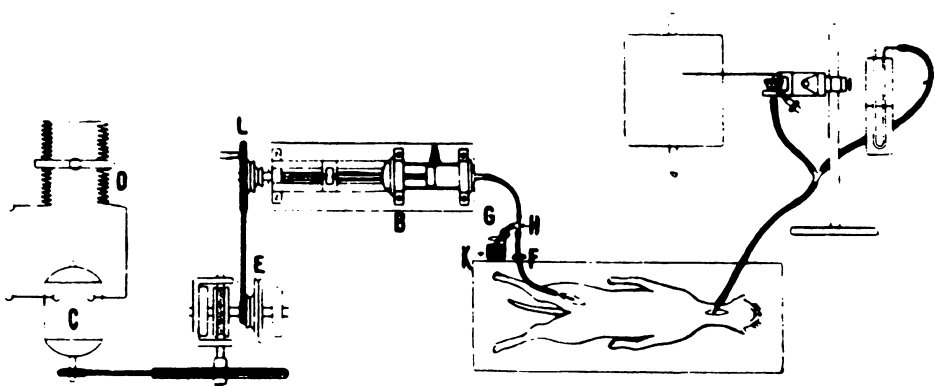
L. W. ROWE untersuchte 1915 in Detroit die Frage des günstigsten Endpunktes der Reaktion bei den Froschmethoden (242). Das Ergebnis seiner Experimente war, daß als bester Endpunkt der Tod des Tieres *mit* dem in Systole erstarrten Herzen anzusehen war, nicht allein der Herzstillstand. Die Gesamtzeit der Untersuchung sollte besser 12 Std. als nur 1 Std. betragen. Später hat auch ROWE an kolorimetrischen Methoden gearbeitet (243).

Genauere Untersuchungen über die Geschwindigkeit der Resorption aus dem Lymphsack des Frosches machte 1919 A. PARANJPÉ (244).

Sehr intensiv befaßte sich G. JOACHIMOGLU am Pharmakologischen Institut der Universität Berlin ab etwa 1919 mit den Wertbestimmungen (245). Unter anderem untersuchte er die Wirksamkeit der Präparate nach Extraktion der Blätter mit verschiedenen Lösungsmitteln. Dabei gab die Infusion mit Wasser nach FOCKE niedrige Werte, die besten Werte ergab die Extraktion mit absolutem Alkohol. JOACHIMOGLU verwendete eine 24-Stundenmethode an männlichen Tieren der Gattung *Rana temporaria* von 25 - 30 g Gewicht. Pro Bestimmung benötigte er 6 Tiere, von denen 4 von der Substanz getötet werden mußten.

Im Gegensatz zu dem sonst üblichen Verfahren verwendete M. S. DOOLEY 1921 in Syracus, New York, am Frosch eine Methode mit intramuskulärer Injektion. Er glaubte, damit einheitlichere Ergebnisse gewinnen zu können (246).

Um eine konstante Geschwindigkeit der Injektion zu gewährleisten, haben wir einen Apparat zusammengestellt, den folgende Abbildung illustriert<sup>1)</sup>. Der Kolben der Rekord-spritze *A* (Inhalt 20 ccm) läßt sich mit Hilfe des Motors *C* gleichmäßig vorwärts bewegen. Die Geschwindigkeit der Injektion ist durch den Widerstand *D* regulierbar. Eine weitere Regulierung ist durch die Übertragung *E* möglich. Ist die Spritze leer, so wird der Strom automatisch unterbrochen. (Diese Vorrichtung ist auf der Abbildung nicht berücksichtigt.) Nun schließt man den Hahn *F*, öffnet den Hahn *G* und kann durch das T-Stück *H* aus dem Vorratsgefäß *K* die Spritze durch schnelles Drehen am Griff *L* innerhalb  $\frac{1}{2}$  Minute füllen. Während dieser Zeit ist selbstverständlich die Injektion unterbrochen.



Tafel 10: Versuchsanordnung nach KURODA mit Erläuterung  
Aus: KURODA (114) S. 232

Eine andere Neuerung brachte 1925 T. KURODA am Pharmakologischen Institut der Universität Berlin, indem er zur gleichmäßigeren Injektion einen motorgetriebenen Kolben einsetzte (247) (Tafel 10). Bei seinen vergleichenden Tests mit Froschmethode und Katzenmethode kam er zu dem Ergebnis, daß die Froschmethode vorzuziehen sei, weil hier die individuelle Empfindlichkeit durch Verwendung von mehr Tieren ausgeschaltet werden konnte; außerdem hielt er diese Methode für wirtschaftlicher (248).

Umfassende Untersuchungen über die besonderen Probleme der biologischen Wertbestimmung von Digitalispräparaten in den Tropen hat ab 1925 R. N. CHOPRA an der Schule für Tropenmedizin in Kalkutta durchgeführt. Seine Experimente führten u. a. zu dem Schluß, daß die Froschmethode in den Tropen unbrauchbar war, weil die dort vorhandenen Frösche und Kröten schlechte Ergebnisse lieferten. Auch nicht optimal, aber besser war die Katzenmethode nach HATCHER, die CHOPRA allerdings durch gleichzeitige Auskultation des Herzens ergänzte (249).

Eine Bestimmung der Dosis letalis nach oraler Gabe anstelle intravenöser Injektion versuchte L. LENDLE 1925 am Pharmakologischen Institut der Universität Kiel (250). Zur Verhinderung des Erbrechens wurden die Frösche kurarisiert; Vorversuche hatten gezeigt, daß die Kurarisierung die Ergebnisse nicht verfälschte.

LENDLE verwies auf die in gleicher Richtung unternommenen Experimente von LHOTAK v. LHOTA, OGAWA und LEWISSON (251) und beschrieb sein eigenes Vorgehen wie folgt: „Die Frösche wurden kurarisiert durch Injektion von 0,1 ccm einer Lösung von 1 : 50.000 Curarin/10 g Frosch. Nach einer Stunde wurden die gelähmten Frösche in stimmgabel-ähnliche Froschhalter, über deren Zinken Gummischläuche gezogen waren, aufgehängt, derart, daß die Zinken der Gabeln unter die Achseln der Frösche griffen. In dieser Haltung blieben genügend kurarisierte Frösche stundenlang ruhig hängen. Nach Öffnung des Mauls wurden mit einer Tuberkulinspritze die zu untersuchenden Mengen der Lösung möglichst bis in den Magen injiziert. Es ließen sich Mengen bis zu 1 ccm injizieren, wobei allerdings der Magen kleinerer Frösche nicht die ganze Menge faßte, so daß sich ein Teil im Schlund und Maul anstaute; da der Frosch aber nicht speien kann und bei geschlossenem Maul nichts ausläuft, war mit keinem Wirkungsverlust zu rechnen. Die so gefütterten Frösche blieben 1/2 - 1 h lang hängen, bis sie die Lösung geschluckt hatten und das Maul leer war.

Die eigentliche Wertbestimmung der Digitalissubstanzen wurde nach der von W. STRAUB ausgearbeiteten alten „zeitlosen“ Methode von HOUGHTON

vorgenommen. Als Versuchstiere dienten Männchen von *Rana temporaria* im Gewicht von 20 - 40 g. Die Versuche fanden in den Monaten Oktober bis Dezember statt bei Temperaturen von etwa 15° C.

Um die per os letale Dosis zu finden, wurden Reihenversuche mit je 2 Fröschen für verschiedene Mengen angesetzt. Wenn die 2 Frösche tot waren, wurde die genauere Festlegung der letalen Konzentrationen in diesem Bereich in der Anordnung nach JOACHIMOGLU mit je 6 oder mehr Fröschen vorgenommen." (252).

#### 2.1.4.2 Verwendung von Warmblütern

Während die Froschmethoden heute allgemein als obsolet gelten, lassen die Pharmakopoen unserer Zeit noch einige Wertbestimmungen an Warmblütern – Katze, Taube, Meerschweinchen und Hund – zu, deren historischer Werdegang hier ebenfalls skizziert werden soll.

##### 2.1.4.2.1 Die Katzenmethode

Zwar hat auch KAKOWSKI, dessen um 1903 in Kiew durchgeführte Froschversuche bereits Erwähnung fanden, an isolierten Katzenherzen gearbeitet (253), jedoch war für die Entwicklung der Methoden an der Katze die Arbeit von ROBERT A. HATCHER an der Cornell Universität in New York wesentlich bedeutsamer (254).

Zunächst hat HATCHER um 1907 versuchsweise zum Vergleich mit der Froschmethode nach FRAENKEL mit einer Laufzeit von einer Stunde eine Arbeitsweise mit subkutaner Injektion an Katzen entwickelt (255). Dabei war der Endpunkt nicht der Tod des Tieres, sondern das Eintreten von Erbrechen. Die Dosisangaben wurden in ccm/kg Tiergewicht gemacht. Nach etlichen Prüfungen mit Strophanthintinkturen kam HATCHER jedoch zu dem Ergebnis, daß der systolische Herzstillstand als Endpunkt der Untersuchung besser geeignet war.

Im Jahre 1910 wurde dann seine mit J. G. BRODY weiterentwickelte Katzenmethode veröffentlicht (256). Dieses Verfahren hielten die Erstbeschreiber für so simpel, daß es auch für jeden auf sich allein gestellten Apotheker durchführbar sein sollte.

Die Methode bestand in der Bestimmung der kleinsten tödlichen Dosis pro kg Katze. Die Droge wurde langsam in die Femoralvene injiziert, als Standardeinheit diente die „Cat Unit“ (257). Diese Katzeinheit war definiert als die Menge von kristallinem Ouabain (oder kristallinem Strophanthin), welche innerhalb von etwa 90 min bei langsamer und möglichst gleichmäßiger Injektion in die Femoralvene für 1 kg Katze tödlich war. Nach HATCHER entsprach eine Katzeinheit ziemlich genau 0,1 mg kristallinem Ouabain, bzw. einem 10 Millionstel des Tiergewichts.

HATCHER war bei der Entwicklung seiner Methode zunächst so vorgegangen, daß er ungefähr 75 % der Gesamtmenge des Digitalispräparates in den ersten 15 min injiziert hatte, den Rest in der folgenden Stunde. Hierbei hatte

er jedoch zu hohe Werte erhalten, weshalb er später zu einer anderen Methode überging: Eine abgemessene Menge des Digitalispräparates wurde in einer ersten Phase von etwa 10 min injiziert, nach einem Intervall von 20 min wurde die Injektion fortgeführt, wobei das Digitalispräparat dann ersetzt wurde durch eine Lösung von kristallinem Ouabain, welche bis zum Tode des Tieres oder dem Erscheinen der Vergiftungszeichen gegeben wurde. HATCHER war der Auffassung, daß Ouabain für sämtliche Digitalissubstanzen einsetzbar war. Die Differenz zwischen der Menge von kristallinem Ouabain, welche im jeweiligen Versuch verbraucht wurde, und 0,1 mg/kg Tiergewicht (der Menge, welche in Abwesenheit von Digitalis gebraucht worden wäre) stellte die Aktivität des benutzten Digitalispräparates dar (258).

HATCHER wendete das Verfahren später (259) auch zur Bestimmung des Wertverlustes von Digitalis nach Alterung, Hitzeeinwirkung, etc. an.

CHARLES WALLIS EDMUNDS und WORTH HALE wählten bei ihren 1909 im Vergleich zu den Froschmethoden an der Katze ausgeführten Experimenten den Blutdruck als Kriterium für die Wirksamkeit der geprüften Präparate (260). Die Katzen wurden mit Chloreton anaesthetisiert, welches in etwas Alkohol aufgelöst und mit Wasser verdünnt enteral verabreicht wurde. Die verschiedenen Präparate wurden miteinander verglichen auf der Basis des prozentualen Blutdruckanstiegs nach Injektion von 1 ccm Lösung. EDMUNDS und HALE sahen einen Nachteil darin, daß man pro Tier nur ein Präparat anwenden konnte, und um einen ausreichend genauen Mittelwert zu erhalten, 2 - 4 Tiere pro Präparat benötigte.

C. R. ECKLER prüfte 1912 die Brauchbarkeit der Katzenmethode nach HATCHER und befand, daß die Katzenmethode die komplizierteste und schwierigste aller in Amerika praktizierten Methoden war (261). Weitere Nachteile sprachen dagegen, wie z. B. die hohen Kosten und die Tatsache, daß der einfache Apotheker allein die Methode eben doch nicht ausführen konnte. Als einzigen Vorteil sah ECKLER, daß die Frage der Resorption bei diesem Verfahren ausgeschaltet war.

Anderer Ansicht war C. EGGLESTON, der ein Jahr später die Katzenmethode mit der 12-Stunden-Froschmethode nach HOUGHTON, der Einstunden-Froschmethode nach FAMULENER und der Meerschweinchenmethode nach REED verglich (262). Zwar empfand er keines der genannten Verfahren als ideal und sah auch in jeder der getesteten Methoden gewisse Vorteile den jeweils anderen gegenüber. Die Methode mit den größten und meisten Vorteilen war jedoch für ihn die Katzenmethode nach HATCHER (263).

Dieser Meinung waren auch L. G. ROWNTREE und D. J. MACHT aus Minneapolis bzw. Baltimore, die diese Methode um 1916 an der Medizinischen Klinik der John-Hopkins-Universität anwendeten. Gegenüber HATCHER und BRODY nahmen sie nur wenige Änderungen vor (264).

C. de LIND van WIJNGAARDEN am Pharmakologischen Institut der Universität Utrecht arbeitete seit 1917 an der Wertbestimmung mit Katzen (265). Er verwendete eine tracheotomierte, künstlich beatmete Katze in Äthernarkose, das Tier atmete jedoch gerade noch spontan. Nach Fixierung einer Glaskanüle in der V. femoralis ließ er die zu prüfende Substanz mit einer Geschwindigkeit von 1 ccm/min einlaufen. Das Gewicht der Katzen sollte ca. 2 kg betragen, wobei LIND van WIJNGAARDEN 1,7 - 2,7 kg gelten ließ (266). Endpunkt war der systolische Herzstillstand, welcher durch Palpation festgestellt wurde; er sollte nach 40 - 45 min erreicht sein (267). Für die Festlegung des endgültigen Wertes waren 3 - 4 Einzelbestimmungen erforderlich.

In der mathematischen Auswertung der Versuche war C. de LIND van WIJNGAARDEN präziser als seine Vorgänger und beachtete die Gesetze der Statistik: „Man setzt die Bestimmungen solange fort, bis das Mittel der prozentischen Abweichungen vom Durchschnittswert der ausgeführten Bestimmungen kleiner ist als  $6,67 \times \sqrt{n-T}$ “ (268). Eine annähernde Umrechnung in den „Valor“ nach FOCKE wurde versucht mit der Division von 75 durch die „Eichungszahl“. Die Eichungszahl stellte die Dosis letalis des 1/2 %igen Infuses/kg Katze dar (269).

L. W. ROWE, der sich 1915 bereits mit dem Problem des günstigsten Endpunktes bei der Froschmethode befaßt hatte (270), berichtete 1919 über Experimente mit Katzen und Hunden (271). Ursprünglich wurden diese Versuche allerdings durchgeführt, um herauszufinden, ob sich zwischen den Ergebnissen der Wertbestimmung mit der Katze und dem Frosch eine Beziehung herstellen ließ. Außerdem sollte die Genauigkeit der Katzenmethode überprüft werden, die gleichzeitig etwas modifiziert wurde.

ROWE war zunächst genau nach der 1909 von HATCHER und BRODY angegebenen Vorschrift vorgegangen – intravenöse Applikation an der anaesthetisierten Katze bis zum Eintritt des Todes innerhalb von 90 min –, änderte aber später seine Versuchsanordnung, weil er glaubte, einheitlichere Resultate zu erhalten, wenn der Endpunkt nach etwa 30 min erreicht wurde. Außerdem hielt er es für besser, die zu prüfende Substanz zu Beginn schnell zu injizieren, und dann alle 2 min 1 ml bis zum Tod des Tieres. Als Anästhetikum verwendete er Chloreton (272).

Um bei dem Vergleich der Froschmethode mit der Katzen- und Hundemethode zu einer möglichst objektiven Beurteilung zu gelangen, unterwarf ROWE 3 Proben einem besonderen Verfahren (273). Dabei wurden die Substanzen nach Austestung mit allen drei Methoden verdünnt bzw. konzentriert, dann wurden diese veränderten Präparate erneut Prüfungen unterzogen, wobei jedoch der Grad der Verdünnung oder Konzentration dem Tester völlig unbekannt war. Erst nach Erhalt der Ergebnisse wurden die Werte miteinander verglichen. Auf diese Weise stellte ROWE fest, daß die Wertbestimmungsmethode am Frosch die zuverlässigste war, weil sie in einem Fall das exakt richtige und in den beiden anderen ein ausreichend gutes Ergebnis lieferte. Die Resultate mit der Katzenmethode waren wesentlich besser als die von Hunden, aber doch nicht ganz so gut wie die, die mit der Froschmethode gewonnen worden waren.

Praktische Anwendung fand die Katzenmethode u. a. bei A. SLUYTERS und RICHARD BLISS. SLUYTERS am Pharmakologischen Institut der Universität Utrecht benutzte 1919 neben dem Frosch die Katzenmethode nach HATCHER zur Untersuchung der Frage, welche Extraktionsmethode den kräftigeren Extrakt ergebe (274).

R. BLISS überprüfte 1921 in Atlanta, Georgia, mit der Katzenmethode nach HATCHER und BRODY verschiedene Digitalisinfuse aus der U. S. Pharmacopoe Nr. 9 (275).

Wertbestimmungen mit der Katze führte 1921 in Montreal auch D. S. LEWIS durch (276). Seine Tiere wogen 1,5 - 2 kg. Nach der üblichen Injektion in die Femoralvene wurde der Herzstillstand nach einer Endlosmethode abgewartet. LEWIS notierte außerdem die Herzfrequenz; bei der Injektion beachtete er die Vorschrift, daß in den ersten 5 min 2 ccm/min, dann 1 ccm alle 2 min infundiert wurden.

M. S. DOOLEY untersuchte 1921 an der Cornell Universität mit der intravenösen Applikationsweise an der Katze den Einfluß der Injektionsgeschwindigkeit auf die benötigte Gesamtmenge (277).

Ebenfalls an Katzen bestimmte E. L. NEWCOMB den Wirkungswert von Blättern der *Digitalis lutea* aus Minnesota (278).

J. A. DAUPHINEE untersuchte 1924 in U.S.A. 5 verschiedene Blattsorten von *Digitalis* aus Britisch Columbien, die jedoch nicht wild gewachsen waren, sondern kultiviert wurden, an der Katzenmethode nach HATCHER sowie der Meerschweinchenmethode nach REED. DAUPHINEE fand dabei eine ausreichende Stärke der kultivierten Blätter (279).



1924 überprüfte noch einmal CHARLES C. HASKELL die Präzision der Katzenmethode und kam zu dem Ergebnis, daß das Verfahren ausreichend genau war, jedoch nur, wenn eine größere Anzahl von Tieren verwendet wurde (280).

#### **2.1.4.2.2 Verwendung von Hunden**

Im Gegensatz zur Katze, die bis heute als Versuchstier für Wertbestimmungsverfahren eingesetzt wird, hat sich die Verwendung von Hunden kaum durchgesetzt.

Die ersten umfangreichen Wertbestimmungsversuche mit Hunden machten um 1900 J. P. ARNOLD und H. C. WOOD an der Universität von Pennsylvania in Amerika (281). Nach Studien über die Herz- und Kreislaufwirkung von verschiedenen Digitalispräparaten mittels intravenöser Applikation bei Hunden versuchten sie nach dem gleichen Prinzip auch Wertbestimmungen. Der Froschherzmethode gegenüber hatten sie Vorbehalte, weil diese ihrer Ansicht nach zu viele verschiedenartige Ergebnisse lieferte.

Im Gegensatz zum Froschherzen haben ARNOLD und WOOD das Hundeherz bei Eröffnung des Thorax immer wieder in Diastole gefunden.

Die Experimente wurden in folgender Weise durchgeführt: Die Jugularvene wurde dargestellt und eine Kanüle eingeführt, dann wurde das Tier tracheotomiert und künstlich beatmet. Der Brustkorb wurde dann mit besonderer Sorgfalt in der Medianlinie eröffnet, um eine Blutung weitestgehend zu vermeiden. Anschließend wurden die Brustwände auseinandergezogen und mit Kettenhaken gehalten. Die Bewegungen des Herzens wurden „mit Auge und Finger studiert, und es wurde sowohl notiert, was wir fühlten, als auch, was wir sahen“ (282). Das war, so ARNOLD und WOOD, einer graphischen Aufzeichnungsmethode gleichwertig oder gar überlegen.

Verabreicht wurden Digitalistinktur, Digitalin und Digitoxin, für jede Substanz wurde die Zeit bis zum Herzstillstand festgehalten. Die Untersucher fanden zwischen den Präparaten keine bedeutenden Unterschiede.

Einen Versuch zur Lösung des Dosierungsproblems machten ARNOLD und WOOD, indem sie aus den Experimenten mit Digitalin und Digitoxin jeweils die „Vergiftungsmenge“ und die tödliche Dosis pro kg Hundegewicht berechneten. Als „Vergiftung“ galt dabei das Absinken der Pulsfrequenz unter 10 Schläge/min (283). Durch Umrechnung dieser Werte auf den 70 kg wiegen-

den Menschen wurde dann versucht, eine Dosierung für Menschen zu finden; die für 1 kg Hund gefundenen Angaben wurden einfach mit 70 multipliziert, obwohl ARNOLD und WOOD bekannt war, daß der menschliche Organismus und der Hundeorganismus unterschiedlich empfindlich gegenüber Digitalis sind (284).

Bei seinen vergleichenden Bestimmungen der kleinsten tödlichen Dosis verschiedener Digitaliszubereitungen benutzte auch GEORGE ETIENNE 1908 in Liège den Hund (285). Er suchte die kleinste tödliche Dosis sowohl nach subkutaner als auch intravenöser und oraler Applikation. ETIENNE hielt außerdem jedesmal den Zeitpunkt des ersten Erbrechens fest.

Sozusagen wiederentdeckt wurde der Hund als Versuchstier 1925 von J. B. BERARDI und anderen (286). Diese Experimente zur Standardisierung wurden im Illinois College of Medicine in Chicago durchgeführt. Nicht der Tod des Tieres, sondern lediglich die Reduktion der Pulsfrequenz galt als Kriterium für die Wirksamkeit. Bei einem Präparat von Standardstärke reduzierten 0,2 ccm der Tinktur/kg Körpergewicht den Herzschlag des Hundes innerhalb von 30 - 60 min um 20 % nach intravenöser Gabe.

BERARDI ging davon aus, daß für die jeweiligen Bestimmungen nur sehr wenig Tiere benutzt werden mußten, im optimalen Fall nur ein einziges. Einen weiteren Vorteil sah er darin, daß die Tiere nach ca. einer Woche wiederverwendet werden konnten und eine Anaesthetie nicht erforderlich war (287).

#### **2.1.4.2.3 Verwendung von Meerschweinchen**

Das im pharmakologischen Versuch sonst so häufig ideale Meerschweinchen fand zunächst im Zusammenhang mit Wertbestimmungsmethoden kaum Beachtung. Heute aber gilt die Meerschweinchenmethode bei der Wertbestimmung von Digitalispräparaten als das beste biologische Prüfungsverfahren (288).

Im Jahre 1908 beschrieb E. D. REED zusammen mit CHARLES E. VANDERKLEED seine an diesem Tier durchgeführten Experimente zur Standardisierung von Digitalis (289). Die Arbeit hatte das Ziel, zu klären, ob eine Beziehung zwischen dem Digitoxingehalt und der physiologisch bestimmten Wirksamkeit eines Präparates zu finden sei. REED hielt das Meerschweinchen wegen seiner Empfindlichkeit für besonders geeignet und hoffte auch auf weniger starke Variationen in den Testergebnissen als bei dem Frosch.

Die Versuchstiere wogen 240 g, den Tieren wurden langsam steigende Dosen subkutan injiziert. Erste Anzeichen der Vergiftung erwartete REED innerhalb von 20 - 30 min in Form von Symptomen stärkerer Erregung bei dem Tier und deutlichem Erbrechen. Anhand seiner Experimente glaubte REED sagen zu können, daß eine Menge eines Digitalispräparates, welche das Tier nicht innerhalb von 2 h tötete, auch später nicht mehr tödlich war. Er legte daher als tödliche Standarddosis die Menge von Digitalis fest, die ein 240 g schweres Meerschweinchen zwischen 1 1/2 und 2 Stunden nach der Verabreichung tötete. Zur Kontrolle hielt REED die Wiederholung des Versuches an 5 oder 6 weiteren Meerschweinchen für erforderlich.

Auch EDMUNDS und HALE prüften in ihrer großen Studie aus dem Jahre 1908 die Verwendbarkeit von Meerschweinchen und benutzten stets Tiere von gleichem Gewicht (290). Auch bei diesen Versuchen wurde subkutan injiziert, die gespritzte Menge wurde stets so verdünnt, daß sie zwischen 1 und 2 ccm lag.

Eine Variation der Methode von REED benutzte J. CHEVALIER 1910 in Paris (291). Hier sollte der Endpunkt der Reaktion jedoch nach 15 - 20 min erreicht sein. CHEVALIER war, wie auch REED, ein Gegner der Froschmethode nach FOCKE, weil er den Frosch für zu stark schwankend in der Empfindlichkeit hielt.

1926 beschrieb ERICH KNAFFL-LENZ eine Variation der ursprünglich von HATCHER für die Katze entworfenen Methode am Meerschweinchen (292). Die hier verwendeten 550 - 770 g schweren Meerschweinchen ließ er vor dem Versuch 5 oder 6 Stunden hungern. Die Digitalisinfusion in die Jugularvene setzte er mit einer Geschwindigkeit von 0,5 - 0,6 ccm/min bis zur deutlichen Schwächung der Herzaktion fort, woraufhin dann die Einlaufgeschwindigkeit auf 0,1 - 0,2 ccm/min gesenkt wurde. Der Thorax wurde dann eröffnet und der Moment des Herzstillstandes notiert.

#### **2.1.4.2.4 Verwendung von Kaninchen**

A. JAQUET in Basel hat 1896 seine Wertbestimmung von Dialysaten (293) nicht nur an Fröschen, sondern auch an Kaninchen durchgeführt. Dazu wurden nach Anaesthesie mit Chloral bzw. Uretan die Zunahme des Blutdruckes und die Abnahme der Pulsfrequenz jeweils um den maximalen Wert festgehalten. Eine Stunde nach der Anaesthesierung wurden A. carotis und V. jugularis dextra präpariert und dort Kanülen eingeführt. Die Zeit bis zum Tode des Tieres wurde notiert, jedoch setzte JAQUET weniger diese Zeit in Bezug zur

Wirksamkeit der untersuchten Substanzen, als vielmehr die Menge, die überhaupt den Tod hervorrief.

Auch C. BÜHRER machte 1899 an der Medizinischen Klinik in Basel Blutdruckversuche an Kaninchen, wobei durch eine in die V. jugularis fixierte Kanüle die Digitalislösung injiziert und deren Wirkung auf Pulsfrequenz und Blutdruck durch Verbindung der A. carotis mit einem Kymograph als Kurve aufgeschrieben wurde (294). Als Maßstab für die Digitaliswirkung diente die ermittelte Dosis letalis. Die Werte wurden auf 1 kg Kaninchen-Körpergewicht umgerechnet.

BÜHRER ermittelte für Kaninchen bei den von ihm untersuchten Fluidextrakten die gleiche Reihenfolge in der Stärke der Wirksamkeit, wie er sie für Frösche gefunden hatte (295).

Zum Vergleich der Wirksamkeit von Abyssinin mit Digitalin, Digitalein, Digalen und anderen Präparaten machte 1905 R. FREUND am Kgl. Pathologischen Institut der Universität Berlin Puls kurvenschreibungen nicht nur am Froschherzen, sondern auch an der Kaninchenarterie (296).

An der Universität Liverpool setzte S. C. M. SOWTON 1908 das isolierte Kaninchenherz zur Wertbestimmung ein (297). Er benutzte Kaninchen mit einem Gesamtgewicht von 3 - 4 lb und ging nach der von THOMPSON YATES beschriebenen Methode vor (298). Die Pulskurve wurde nach Befestigung des Schreibers am rechten Ventrikel bis zum Herzstillstand geschrieben.

MARIA und PETER NICULESCU entwickelten 1912 im Städt. Krankenhaus Friedrichshain zu Berlin eine Kombination der Froschmethode mit einer Warmblütermethode (299). Zunächst wurde nach dem geläufigen Verfahren von FOCKE am Frosch vorgegangen. Dann wurde versucht, zum Zwecke einer leichteren Dosierbarkeit am Kaninchen eine dreistufige Wirksamkeitsskala zu erstellen. Dies geschah mittels Blutdruckmessungen aus der A. carotis mit einem Quecksilber- bzw. einem Metallmembranmanometer nach Injektion in die Jugularvene. Die Pulskurven wurden abgelesen und nach folgendem System ausgewertet:

1. Spürbare Wirkung auf den Kreislauf und Pulsverlangsamung ohne oder mit Blutdruckänderung = „minimale pharmakodynamische Dosis“.
2. Kräftige Blutdrucksteigerung und starke Pulsverlangsamung = „maximale pharmakodynamische Dosis“.
3. Tod des Tieres mit systolischem Herzstillstand = „primär tödliche Gesamtdosis“ (300).

Die Dosierungen wurden jeweils pro kg Körpergewicht angegeben.

Bei dem Versuch, nach der gleichen Methode am entbluteten Tier eine Wirksamkeitsskala aufzustellen, machten die Untersucher die Beobachtung, daß „die Wirkung der Herzmittel erst am geschädigten Herzen so recht manifest wird“ (301). Zur Simulierung eines Myokardschadens wurden auch Versuche nach akuter und chronischer Phosphatvergiftung und unter elektrischem Strom durchgeführt, der jedoch keine Beeinflussung des Herzens durch Digitalis mehr zuließ.

Den einzigen Nachteil ihres kombinierten Verfahrens mit Froschmethode und 3-Stufen-Warmblütermethode sahen MARIA und PETER NICULESCU darin, daß auch hier immer noch nicht die Faktoren „Resorption“ und „Kumulierung“ berücksichtigt wurden.

### 2.1.4.3 Diverse

Die Tatsache, daß auch noch so präzise Arbeitsanleitungen – wie z. B. die von FOCKE für die Froschmethode – nicht zu einheitlichen und wirklich zuverlässigen Ergebnissen führten, hatte zur Folge, daß immer wieder neue Wege beschritten und etliche Tierarten und auch Pflanzen für die Versuche zur physiologischen Wertbestimmung eingesetzt wurden. Jedoch stieß man überall auf die Grenzen der Meßbarkeit in der Reaktion lebender Organismen.

#### 2.1.4.3.1 Versuche mit der Maus

CHARLES WALLIS EDMUNDS und WORTH HALE führten bei ihrem Vergleich von M.L.D.-Testmethoden auch Versuche mit Mäusen durch (302). Es wurden weiße Mäuse von 15 - 25 g Gewicht verwendet, welchen eine Gesamtmenge von höchstens 1 ccm Substanz subkutan unter die Haut des Rückens injiziert wurde. Es wurde dann die Dosis bestimmt, die gerade noch den Tod der Tiere bewirkte.

Besonders intensiv hat sich R. HEINZ im pharmakologischen Institut der Universität Erlangen etwa 1912 mit Versuchen an Mäusen befaßt (303). Er war von der Firma MERCK gebeten worden, die von ihr in den Handel gebrachten Digitalispräparate „physiologisch zu eichen“ (304). Dabei kamen zwar auch Frösche, Kaninchen und Katzen zur Anwendung, das Schwergewicht der Arbeit lag jedoch bei den Versuchen mit Mäusen. HEINZ war ein Gegner der Froschmethode nach FOCKE, die er u. a. deshalb ablehnte, weil sie zu wenig den täglichen Erfordernissen bei der Anwendung von Digitalispräparaten entsprach. Er forderte, daß eine physiologische Wertbestimmungsmethode praxisnäher sein sollte und daher zum einen an Warmblütern und außerdem mit oraler Applikation vollzogen werden mußte. Bei den von ihm verwendeten Tieren bestimmte er die kleinste tödliche Dosis, wobei Gratusstrophanthin und Digitoxin als Standardpräparate dienten. Zunächst wurde eine Versuchsreihe mit subkutaner Injektion durchgeführt. Den weiteren Verlauf der Wertbestimmung beschrieb HEINZ wie folgt (305):

„Ist die kleinste tödliche Dosis bei subkutaner Injektion konstatiert, so erhalten Mäuse die 1-, 2-, 4-, 8fache tödliche Dosis per os. Hierzu wird folgendermaßen verfahren: Das Versuchstier (Maus) wird aus einem kleinen Einzelkäfig (einfacher kleiner Drahtkäfig) in ein reines Glas gesetzt – ohne Futter –. Nach einigen Stunden Fastens erhält sie eine Futterpille, die mit der gewählten, in 1 Tropfen Wasser gelösten Dose imprägniert ist. Sie frißt dann – infolge ihres Hungers – die Pille ganz auf. Man kann dann, nach z. B. einer Stunde, weitere (z. B. 5 oder 10) Futterpillen geben, um zu sehen, ob das Digita-

lispräparat appetitstörend (magenschädigend) wirkt. Es wird nun beobachtet, wann bzw. nach welcher Dosis die ersten Symptome bzw. wann der (Herz-) Tod eintritt und es wird die hierbei beobachtete Zeit und Dosis mit Zeit und Dosis bei subkutaner Injektion verglichen. Mit diesem äußerst einfachen Verfahren konstatiert man:

1. Die Wirkungsintensität bei subkutaner Injektion, verglichen mit der von g-Strophanthin und Digitoxin.
2. Die Art der Wirkung, ob akut oder verzögert.
3. Das Verhältnis der Wirkung bei Verabreichung per os und bei subkutaner Injektion.
4. Die Verträglichkeit des Präparates bei innerer Darreichung.

Man sieht, daß durch die Mäusemethode bereits eine viel eingehendere Erkenntnis der Eigenschaften der Digitalispräparate gewonnen wird als durch die Froschmethode.”

1926 erarbeitete MARIE KROGH ebenfalls eine Methode an weißen Mäusen (306). Hierbei wurden junge Mäuse von 6 - 10 Wochen und einem Gewicht von 18 - 20 g verwendet. Die zu untersuchenden Digitalispräparate wurden in RINGER-Lösung subkutan injiziert. Am 1. Tag wurde der Zustand der Tiere in Abständen von etwa 2 h beobachtet, danach 2 x täglich. Üblicherweise fand M. KROGH den Tod einer Maus bei einer gewöhnlichen Dosis nach 1 - 3 Tagen.

Bei diesen im Laboratorium für Zoophysiologie der Universität Kopenhagen durchgeführten Versuchen wurde die Wirksamkeit der jeweils geprüften Substanz bis zum Tode des Tieres in 4 verschiedene Stufen unterteilt, die jeweils an verschiedenen Vergiftungsstadien bei dem Tier ablesbar sein sollten.

#### **2.1.4.3.2 Versuche mit der Taube**

Die Taube – erst relativ spät als Versuchstier für Wertbestimmungen eingesetzt – wird in den Pharmakopoen heute noch zugelassen. Allerdings ist nicht mehr das Erbrechen, sondern der Tod als Endpunkt der Reaktion festgesetzt (307).

1925 machte sich P. J. HANZLIK an der Stanford Universität in San Francisco, Kalifornien, noch das als Vergiftungssymptom bei Digitalisgaben nahezu regelmäßig auftretende Erbrechen als Grundlage einer Standardisierungsmethode zunutze (308). Er bestimmte in Anlehnung an die MLD eine „Minimal Emetic dose (MED)” (309), also die kleinste Erbrechen hervorrufende Dosis, und benutzte für diese Versuche Tauben mit einem Körpergewicht von etwa 300 g. Den Tieren wurde die Substanz in steigender Dosierung in die

Flügelvene gespritzt, dann wurden sie in kleine Käfige gesetzt. Das Auftreten von Erbrechen kündigte sich durch Nickbewegungen mit dem Kopf, vermehrten Speichel- und Tränenfluß, Sträuben der Halsfedern und Flügelschlagen an. Üblicherweise fand HANZLIK das Eintreten des Erbrechens nach 5 - 10 min je nach Dosis.

Einen großen Vorteil dieser später als „Tauben-Brechmethode“ bekannten Verfahrensweise sah er in der Tatsache, daß dieselben Tiere nach 2 - 3 Tagen wieder verwendet werden konnten. Außerdem hielt HANZLIK, weil ja das Erbrechen auch bei Menschen als eines der ersten Vergiftungssymptome auftritt, eine Umrechnung von an der Taube pro kg Körpergewicht gefundenen Dosierungen auf den Menschen für möglich.

#### **2.1.4.3.3 Versuche mit Ratten**

Auf der Suche nach einer Methode, die der Froschmethode überlegen sein könnte, überprüfte WALTER E. WENTZ im Hahnemann Medical College in Philadelphia die Brauchbarkeit von weißen Ratten im Jahre 1925 (310). Hierbei wurden Tiere mit einem Gewicht von 150 - 200 g verwendet. Mit einer Fließgeschwindigkeit von 1 ml/min wurde die zu prüfende Substanz in die V. saphena injiziert, bis der Tod des Tieres eintrat. Dieser Endpunkt wurde nach etwa 15 min erwartet. Bei seinen Versuchen stellte WENTZ fest, daß die weiße Ratte empfindlicher gegen Digitalis ist als der Frosch.

#### **2.1.4.3.4 Versuche mit Schildkröten**

1916 entwickelte W. H. ZEIGLER im Medical College in South Carolina eine Standardisierungsmethode an Schildkröten (*Emys blandingii*) (311). Die Tiere wogen 500 g und wurden vor dem Versuch entmarkt. Die Injektion der Präparate geschah in die rechte oder linke Aorta, wobei im Standardfall 1/10 ml Lösung/g Körpergewicht nach 3 min eine „therapeutische“ und nach 10 min die „toxische“ Wirkung entfaltete. Diese Stadien wurden an kymographischen Kurven abgelesen (312). Für die einzelne Bestimmung benötigte ZEIGLER ca. 3 Tiere.

#### **2.1.4.3.5 Versuche mit Fischen**

PAUL S. PITTENGER und C. E. VANDERKLEED berichteten 1914 über ihre im Laboratorium der H. K. Mulford Company entwickelte Standardisierungsmethode (313). Zur Anwendung kamen dabei Goldfische (*Carassius*



auratus), deren Gewicht praktisch vernachlässigbar sein sollte. In 1 - 2 Serien zu jeweils 6 Fischen wurden die Tiere in Lösungen der zu prüfenden Substanzen eingesetzt. Die Aufnahme der Flüssigkeit geschah dabei naturgemäß durch die Kiemen. Als Standard galten 2,85 ml der U. S. P.-Tinktur, welche den Tod der Fische nach 3 h hervorriefen.

PITTENGER und VANDERKLEED fanden die Methode preiswert und einfach, der einzige besonders genau zu beachtende Umstand war die exakt einzuhaltende Temperatur der Flüssigkeit, in welcher die Fische schwammen: Vergleichbare Werte fanden sich nur bei 22° C.

#### **2.1.4.3.6 Versuche mit Einzellern**

Auf der Suche nach einer möglichst simplen Wertbestimmungsmethode wählte A. SCHNEIDER 1924 im North Pacific College of Oregon das *Paramecium caudatum* als Versuchstier (314). Der Tod dieser Tiere sollte nach Einsetzen in die zu untersuchende Lösung nach 1 - 3 min eintreten. Mit dieser Methode erhielt SCHNEIDER jedoch Ergebnisse, die mit der Einstundenmethode am Frosch nicht übereinstimmten.

#### **2.1.4.3.7 Versuche mit Pflanzen**

DAVID I. MACHT verwendete 1924 an der John-Hopkins-Universität in Baltimore Setzlinge von *Lupinus albus* zur Standardisierung. Sichtbares Zeichen der Digitaliswirkung war dabei die Beeinträchtigung des Wachstums von 3 Tage alten Wurzeln der Setzlinge nach Exposition in der Tinktur über 24 h, was einfach anhand der Wurzellänge nachgemessen werden konnte (315).

#### **2.1.4.3.8 Klinische Methoden**

Die Notwendigkeit einer individuellen Dosierung am Menschen ist schon sehr früh bekannt gewesen. Verschiedentlich gab es Versuche einer Systematisierung der auf den Einzelfall abgestimmten Medikation bei den Klinikern, so z. B. bei FOCKE (316). Eine regelrechte experimentelle Wertbestimmung am Menschen wurde jedoch erst relativ spät entwickelt.

Die Anstöße zu derartigen Untersuchungen kamen naturgemäß von seiten der Kliniker und Praktiker, da die Pharmakologen, welche an Tierversuchen arbeiteten, meist mit dem praktischen Umgang mit der Digitalis weniger vertraut

waren. Diese klinischen Methoden haben deshalb eine andere Wurzel und historische Entwicklung, deren umfassende Darstellung den Rahmen dieser Arbeit sprengen müßte.

Untersuchung am „menschlichen Tier“ nannte HAROLD E. B. PARDEE 1923 in New York seine klinischen Wertbestimmungen (317). Er führte diese Versuche an Menschen mit oder ohne Herzerkrankung durch und stellte – wie nicht anders zu erwarten - fest, daß eine sehr große Anzahl von Einzelbestimmungen notwendig war.

Nach oraler Gabe wählte PARDEE als Kriterium für die Wirksamkeit der Präparate die Verkleinerung der T-Welle im EKG. PARDEE bestimmte die kleinste wirksame Dosis, indem er im Verlauf steigender Dosierung fortlaufend Elektrokardiogramme schrieb. Die kleinste Änderung der T-Welle entsprach der kleinsten wirksamen Dosis und wurde bei etwa einem Sechstel oder einem Achtel der vollen therapeutischen Dosis angenommen. Das Maximum der T-Wellenverkleinerung lag bei ca. 6 - 10 h nach der Gabe, die Änderungen der Herzfrequenz gingen damit parallel (318).

Neben der oralen und damit praxisgerechten Gabe sah PARDEE einen Vorteil des Verfahrens darin, daß die Resorption mit in die Bestimmung einging. Auch er fand erhebliche Schwankungen in der Empfindlichkeit der einzelnen Patienten, wie dies für Tiere ja schon hinreichend bekannt war. Allerdings stimmten die am EKG überprüften und objektivierten Ergebnisse mit seinen früher gewonnenen Erfahrungen gut überein.

### 2.1.5 Die Konferenzen von EDINBURGH und GENF

Um endlich eine internationale Vereinheitlichung der Standardisierungs- und Wertbestimmungsverfahren zu erreichen, fanden 1923 in Edinburgh und 1925 in Genf Konferenzen statt, auf denen das erforderliche Vorgehen besprochen werden sollte.

Die in diesem Abschnitt ausgeführten Darstellungen darüber, wie es zu diesen Konferenzen und ihren Beschlüssen kam, sind – teilweise stark gekürzt – der Zusammenfassung von ERICH KNAFFL-LENZ von der Universität Wien entnommen, die 1928 erschien (319):

Im Jahre 1922 gab der Präsident der Hygieneorganisation des Völkerbundes, Prof. Dr. Th. MADSEN, den Anstoß für eine Untersuchung darüber, welche Heilmittel außer den Heilseren und bakteriellen Produkten eine international anerkannte biologische Wertbestimmung erforderten. H. H. DALE erstellte daraufhin eine Liste mit Vorschlägen solcher Produkte, unter denen sich neben Hypophysenextrakten und Nebennierenpräparaten auch Herzmittel wie Digitalis und Strophanthin fanden.

Die Hygieneorganisation des Völkerbundes ermächtigte daraufhin ihren Präsidenten, eine internationale Konferenz unter Mitwirkung hervorragender Fachmänner abzuhalten, um diese Fragen zu klären.

Die erste Konferenz fand im Jahre 1923 in Edinburgh statt. MADSEN hob bei der Eröffnung nochmals hervor, daß es Zweck der Konferenz sei, für die genannten Mittel einerseits stabile Präparate zu schaffen und andererseits verlässliche biologische Untersuchungsmethoden auszuarbeiten.

Prof. MAGNUS erklärte sich bereit, zu diesem Zwecke 3 geeichte Digitalisblätterpulver zur Verfügung zu stellen. Durch Bereitstellung solcher Präparate war es nun möglich, die Wirkungsstärke derselben in verschiedenen Ländern von einer Reihe von Forschern mit der gleichen oder mit verschiedenen Methoden feststellen zu lassen, und dadurch sowohl die Brauchbarkeit der verwendeten Methoden als auch der verwendeten Präparate als künftige Standardpräparate feststellen zu lassen.

Nach Ablauf von zwei Jahren waren die entsprechenden Untersuchungen soweit gediehen, daß an die Einberufung einer zweiten größeren Konferenz gedacht werden konnte. Sie fand 1925 in Genf statt.

Die Konferenzteilnehmer von Edinburgh befanden die Froschmethode sowie auch die Katzenmethode für ausreichend genau, um beide Methoden als zulässig anzuerkennen.

Die Genfer Konferenz formulierte nach den inzwischen vorliegenden Erfahrungen folgende Vorschläge für das weitere Vorgehen:

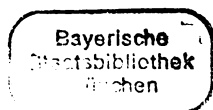
- „1. Als internationales Standard soll ein Digitalisblätterpulver von Digitalis purpurea von derselben Stärke ( $\pm 10$ ) wie das bisherige Standardpulver der internationalen Konferenz in Edinburgh dienen. Es soll durch Mischung von 10 verschiedenen Blätterpulvern (bei 55 - 60° C sachgemäß getrocknet) hergestellt, von Herrn Prof. MAGNUS biologisch ausgewertet (welcher sich hierzu der Katzenmethode bedienen wird) und für internationalen Gebrauch verteilt werden. Die Konstanz der Wirksamkeit soll jährlich durch Prof. MAGNUS kontrolliert werden; bei Verschlechterung oder drohendem Aufbrauch soll ein gleiches Standardpräparat hergestellt werden. Das Präparat soll in verschlossenen Ampullen aus braunem Glas den verschiedenen Ländern zur Auswertung ihrer eigenen Standardpräparate zur Verfügung gestellt werden.
2. Nach dem gegenwärtigen Stande der Erkenntnisse wird keine bestimmte Extraktionsmethode als einzig richtige empfohlen (Infus, Kaltalkohol, Warmalkohol). Es muß jedoch zwecks Eichung das zu prüfende und das Standardpräparat auf die gleiche Weise extrahiert werden.
3. Als zur Zeit genügend verlässliche biologische Eichungsmethoden werden empfohlen:
  1. Die Froschmethode (Beobachtungsdauer mindestens 4 h). ...
  2. Die von MAGNUS modifizierte HATCHERsche Katzenmethode.“

Da keine einheitliche Prüfungsmethode vorgeschlagen und die Relation zwischen Katzen- und Froschwerten nicht festgestellt wurde, unterließ es die Konferenz in Genf, eine internationale Einheit für Digitalis zu definieren, wie sie es für die anderen biologisch auszuwertenden Heilmittel getan hatte, sondern sie schlug vor, daß Digitalisblätter in ihrem Wirkungswert nicht mehr als 25 % vom Standardpräparat abweichen sollten. Dieser Vorschlag hatte einerseits den Nachteil, daß hochwertige Digitalisdrogen mit minderwertigen vermengt werden mußten, um auf die geforderte Stärke gebracht zu werden, andererseits aber den großen Vorteil, daß der Arzt immer eine Digitalisdroge von ungefähr gleicher Wirkungsstärke erhielt und nicht die Stärke nach Katzen- oder Froscheinheiten beurteilen mußte, unter welchen er sich wohl

nicht viel vorstellen konnte. Bezüglich der klinischen Methode urteilte die Genfer Konferenz:

„Die nach Abschluß der Konferenz geführten Untersuchungen über die Wirkungsstärke der 3 Blätterproben am herzkranken Menschen haben gezeigt, daß eine quantitative Bewertung am Patienten mit den derzeitigen klinischen Untersuchungsmethoden nicht möglich ist. Es gelingt aber immerhin zu zeigen, daß das Präparat A, welches sich im Tierversuch als ungefähr halb so stark erwiesen hat als das Standard, auch am Menschen schwächer wirksam ist.“ (321).

Eine später zum gleichen Thema abgehaltene Konferenz in Frankfurt ließ im Gegensatz zu der Genfer Konferenz neben den dort bereits erlaubten Standardisierungsmethoden auch die Bestimmung der Dosis Letalis Minima nach intravenöser Infusion am Meerschweinchen oder am Hunde zu (322).



## 2.2 Schlußbemerkungen

Nach diesen Konferenzen, die erstmals die Anzahl der in Frage kommenden Methoden für die biologische Wertbestimmung auf einige wenige begrenzten, ließ die Flut der Neuentwicklungen – ablesbar an der Anzahl der Veröffentlichungen zu dem Thema – spürbar nach. Man befaßte sich nun mehr mit der Verfeinerung der zugelassenen Verfahren und der Herstellung von nationalen und internationalen Standardpräparaten.

Seit der Genfer Konferenz war auch die Tatsache bekannt, daß eine vernünftige Auswertung der Ergebnisse biologischer Prüfungsmethoden nur unter Anwendung der modernen mathematischen Verfahren mit Berücksichtigung der Gesetze der Statistik erfolgen konnte, was erstmals konsequent von J. W. TREVAN, JOSHUA HEROLD BURN u. a. durchgeführt wurde (323).

Heute ist in den Pharmakopoen hauptsächlich die Meerschweinchenmethode vertreten, die als beste biologische Prüfungsmethode gilt, daneben die Katzen- und Taubenmethode, verschiedentlich auch Prüfungen am Hund. Die Froschmethode dagegen, an der besonders intensiv gearbeitet worden war, gilt – wenngleich sie noch Erwähnung findet – als „obsolete, nicht mehr wissenschaftlich wertvolle Methode“ (324).

Zur Definition des Standardpräparates lesen wir in HAGERs Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Bd. 4, von 1973:

„Das Internationale Standardpräparat ist eine Mischung getrockneter, gepulverter Digitalisblätter und ist an der Katze eingestellt worden. 1 I. E. (Internationale Einheit) ist in 0,076 g des Internationalen Standardpräparates (1960) enthalten, der erste Internationale Standard (1926) enthielt 1 I. E. in 0,1 g. In den einzelnen Ländern gelten häufig nationale Standardpräparate, denen jedoch meistens der Internationale Standard zugrunde gelegt wird. Das deutsche Standardpulver (ebenfalls erhältlich von der Standardabteilung der Medizinischen Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft in Göttingen) gibt seinen Wirkungswert in FD (Froschdosis) an (1 I. E. = 200 FD). Die früher gebräuchliche Froschdosis gibt an, wieviel Gramm Frosch durch 1 g Fol. Digitalis getötet werden. Der heute bevorzugt an Katzen und Meerschweinchen ermittelte Wirkungswert wird meist in mg Substanz pro kg Versuchstier angegeben (Katzen- bzw. Meerschweinchendosis).“ (325).

Die entscheidende Wendung, die seit der Genfer Konferenz in der Therapie mit Digitalis eingetreten ist, ist jedoch dadurch gegeben, daß heute – in Phase 4 der Geschichte des Fingerhutes – fast alle Herzglykoside isoliert und einheitlich dargestellt werden können. Damit haben die Physiologischen Stan-

dardisierungsmethoden ihre elementare Bedeutung verloren und müssen uns aus heutiger Sicht wie eine Notlösung erscheinen, wenn auch das DAB 8 z. B. noch die Monographien ‚Digitalis lanata Blätter‘, ‚Eingestelltes Digitalis lanata Pulver‘ und ‚Eingestelltes Digitalis purpurea Pulver‘ enthält, für die die zuletzt genannten Methoden Anwendung finden (326).

Es ist jedoch schwer zu sagen, wieweit solche Pflanzenextrakte heute überhaupt noch verwendet werden, nachdem durch die Reindarstellung der Glykoside die Dosierung erheblich vereinfacht wurde; denn einheitliche Glykoside haben auch einheitliche Wirksamkeit, und zur Dosierung der heute im Handel befindlichen Reinglykoside Digoxin, Acetyldigoxin, Digitoxin, Lanatosid C u. a. bedarf es der Apothekerwaage, nicht irgendwelcher biologischer Wertbestimmungsmethoden (327).





### 3. ZUSAMMENFASSUNG

Dargestellt wird die Entwicklung der Methoden zur biologischen Wertbestimmung von Digitalispräparaten, die die Phase 2 in der Geschichte der Therapie mit Digitalis kennzeichnen. Es handelt sich dabei um Tierversuche an Fröschen oder Warmblütern wie Hunden, Katzen und Tauben, die jedoch nicht die Untersuchung der Wirkung von Digitalis, sondern die Quantifizierung der Wirkungsstärke einzelner Präparate und deren internationale Standardisierung zum Ziel hatten.

Es wird gezeigt, daß diese Methoden nicht erst speziell für Standardisierungsverfahren erarbeitet werden mußten, sondern aus bereits bekannten und weit verbreiteten Versuchsanordnungen zur Erforschung der Digitaliswirkung hervorgingen.

Wenngleich die Grenzen zwischen solchen Untersuchungen, die nur dem quantitativen Vergleich einiger Digitaliszubereitungen dienten, und solchen, die die Standardisierung von in den Handel kommenden Präparaten zur Aufgabe hatten, unsicher ist, so kann man doch die ersten Standardisierungsverfahren im engeren Sinne den Namen J. L. PREVOST (1893), A. JAQUET (1897) und E. M. HOUGHTON (1898) zuordnen. Es wird jedoch hervorgehoben, daß diese Untersucher eine Reihe von unmittelbaren Vorgängern hatten, die – unter etwas anderen Zielsetzungen – die Methodik bereits erarbeitet hatten.

1923 und 1925 legten zwei Konferenzen in Edinburgh und Genf international gültige Normen für die inzwischen angewendeten Standardisierungsverfahren fest und bestimmten die Herstellung eines internationalen Standardpräparates.

Die Epoche der biologischen Wertbestimmungsmethoden für Digitalis ging etwa in der Mitte des 20. Jahrhunderts dem Ende entgegen, als die Reindarstellung von Herzglykosiden solche Verfahren überflüssig machte; damit begann die 3. Phase in der Geschichte der Therapie mit Digitalis.



#### 4. ANMERKUNGEN

- 1 F. Kaiser, Boehringer-Mannheim; pers. Mitteilung. Vgl. auch H. Loosen (215), S. 1297.
- 2 Zit. n. Loosen (215), S. 1297.
- 3 W. Withering (189).
- 4 Vgl. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis (208), S. 553.
- 5 Ebenda.
- 6 Ebenda.
- 7 Z. B. Schiemann (165). S. a. Winau (232), S. 41 - 44.
- 8 Z. B. Orfila (137), Johnstone (101).
- 9 Vgl. Hagers Handbuch der Pharmaz. Praxis, Bd. IV (208), S. 553.
- 10 Siehe z. B. Heyen (211), Issekutz (213), Kobert (214), Martin (217), Overhamm (218), Stenius (226, 227), Van Prooijen (231), Zekert (233), Haas (207).
- 11 Issekutz (213), S. 252 - 254.
- 12 Haas (207), S. 147.
- 13 Vgl. Friend (204), VanLiere (230).
- 14 Burchell (200), Friend (204), Grosse-Brockhoff (206), Hatt (210), Loosen (275), Rahimtoola (219), Rytand (222), VanLiere (230).
- 15 Schneider (169).
- 16 Keller (103), S. 58 - 70.
- 17 F. Kaiser, Boehringer-Mannheim, pers. Mitteilung.
- 18 Vgl. Focke (38).
- 19 Johnstone (101).
- 20 Withering (189).
- 21 Johnstone (101), S. 163 f.
- 22 Johnstone (101), S. 164. Zum Problem der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Tiere s. a. Koppe (109) und Fraenkel (53), S. 225.
- 23 Vgl. auch Winau (232), S. 42.
- 24 Schiemann (165), S. 28.
- 25 Orfila (137).
- 26 Orfila (137), z. B. S. 297, 12. Versuch.
- 27 Orfila (137), S. 297 u. 299.
- 28 Boehm (12).
- 29 Orfila (137), S. 304 u. 305.
- 30 Blake (10).
- 31 Johnstone (101).

- 32 Stannius (175).
- 33 Stannius (175), S. 208.
- 34 Vulpian (183).
- 35 Fagge u. Stevenson (34).
- 36 Fagge u. Stevenson (34), S. 271.
- 37 Fagge u. Stevenson (34), S. 273.
- 38 Ebenda.
- 39 Boehm (12).
- 40 Boehm (12), S. 176 - 179.
- 41 Boehm (12), Fig. 1 - 8 auf Tafel 4. Kurven vom Fickschen Federmanometer werden von rechts nach links gelesen.
- 42 Polaillon und Carville (148).
- 43 Williams (188).
- 44 Williams (188), S. 11 - 13.
- 45 Stannius (175).
- 46 Stannius (175), S. 192, Versuch mit einem Hunde.
- 47 Vgl. Schaumann (223), S. 1266 zur Übertragung von Ergebnissen vom Meerschweinchen auf den Menschen.
- 48 Traube (180).
- 49 Enthalten in den „Gesammelten Beiträgen“, Traube (180), S. 190 - 234.
- 50 S. Stannius (175).
- 51 Traube (180), S. 235 - 242, Tafel 1.
- 52 Traube (180), S. 250 - 251, mit Tafel 2.
- 53 Lenz (119).
- 54 Brunton und Meyer (15).
- 55 Ackermann (1).
- 56 Boehm (12). Vgl. Abschnitt 2.1.2.1.
- 57 Dybkowsky und Pelikan (28).
- 58 Dybkowsky und Pelikan (28), S. 280, Anm. 3.
- 59 Dem Problem der jahreszeitlichen Schwankungen hat sich später besonders Focke (47) gewidmet.
- 60 Dybkowsky und Pelikan (28), S. 281.
- 61 Dybkowsky und Pelikan (28), ebenda.
- 62 Dybkowsky und Pelikan (28), S. 284.
- 63 Fraser (56).
- 64 Fraser (57).
- 65 Ebenda, Teil 2, Nr. 36.
- 66 Ebenda, S. 348.
- 67 Ebenda, S. 397, dazu Tafel 13 ff.
- 68 Ebenda, S. 401.
- 69 Vgl. Williams (188).

- 70 Koppe (109).
- 71 Koppe (109), S. 275. Gemeint ist die Injektion in den Lymphsack.
- 72 Koppe (109), S. 277.
- 73 Zu den Versuchen, die Koppe mit Warmblütern durchgeführt hat, und seinem bemerkenswerten Selbstversuch vgl. Abschnitt 2.1.3.2.
- 74 Perrier (143).
- 75 Perrier (143), S. 206, Zif. 6.
- 76 Laborde und Duquesnel (116).
- 77 Gemeint ist wohl Mercksches Digitalin.
- 78 Laborde und Duquesnel (116), S. 97.
- 79 Laborde und Duquesnel (116), S. 98.
- 80 Laborde (115).
- 81 Zu den Säugetierversuchen von Laborde und Duquesnel s. unter 2.1.3.2.
- 82 Gley (61).
- 83 Gley (61), S. 349.
- 84 Bardet (3).
- 85 Bardet (3), S. 257.
- 86 Bardet (3), S. 259, Absatz 2.
- 87 Fouquet (52).
- 88 Reusing (155).
- 89 Reusing (155), S. 10.
- 90 Reusing (155), S. 21.
- 91 Vgl. Prevost (150, 151).
- 92 Piotrowska (145).
- 93 Piotrowska (145), S. 14.
- 94 Piotrowska (145), S. 16 u. S. 31 - 55.
- 95 Brondgeest (14).
- 96 Brondgeest (14), S. 906.
- 97 Brondgeest (14), S. 909.
- 98 Ebenda.
- 99 Koppe (109).
- 100 Koppe (109), S. 279.
- 101 Koppe (109), S. 290.
- 102 Zur Übertragbarkeit von am Tier gewonnenen Ergebnissen auf den Menschen vgl. auch Schaumann (223).
- 103 Koppe (109), S. 296.
- 104 Koppe (109), S. 298.
- 105 Fraenkel (53).
- 106 Fraenkel (53), S. 214.

- 107 Fraenkel (53), S. 215.
- 108 Fraenkel (53), ebenda.
- 109 Fraenkel (53), S. 216.
- 110 Fraenkel (53), S. 225.
- 111 Fraenkel (53), ebenda.
- 112 Fraenkel (53), S. 226.
- 113 Bennefeld (5).
- 114 Schneider (169).
- 115 Bennefeld (5), S. 17.
- 116 Bennefeld (5), S. 36.
- 117 Bennefeld (5), S. 27.
- 118 Vgl. Focke (39, 50).
- 119 Bennefeld (5), S. 37.
- 120 S. Abschnitt 2.1.3.1.
- 121 Laborde und Duquesnel (116).
- 122 Laborde (115).
- 123 Laborde (115), S. 602.
- 124 Gley (61, 62).
- 125 Gley (61), S. 350.
- 126 Gley (61), ebenda.
- 127 Gley (61), S. 351.
- 128 Pfaff (144).
- 129 Pfaff (144), S. 19.
- 130 Prevost (150).
- 131 Prevost (150), S. 506.
- 132 Rana temporaria.
- 133 Rana esculenta.
- 134 Prevost (150), S. 509.
- 135 Fraser (57), S. Abschnitt 2.1.3.1.
- 136 Prevost (150).
- 137 Prevost (150), S. 516.
- 138 Jaquet (95).
- 139 Jaquet (95), S. 327.
- 140 Houghton (89).
- 141 Houghton (89), S. 959.
- 142 Houghton (89), S. 960.
- 143 Houghton (89), ebenda.
- 144 Houghton (89), S. 961.
- 145 Bühner (16).
- 146 Prevost (151).
- 147 Bühner (16), S. 620.
- 148 Bühner (16), ebenda.

- 149 Bühner (16), S. 622.
- 150 Ziegenbein (195).
- 151 Siebert (172).
- 152 Vgl. Keller (103).
- 153 Ziegenbein (195), S. 470.
- 154 Ziegenbein (195), S. 466, etwas verkürzt.
- 155 Ziegenbein (195), S. 470.
- 156 Ziegenbein (195), S. 470, Fußnote.
- 157 Fraenkel (54).
- 158 Fraenkel (54), S. 106.
- 159 Fraenkel (54), S. 108.
- 160 Fraenkel (54), S. 112.
- 161 Fraenkel (54), S. 143.
- 162 Famulener und Lyons (35).
- 163 Arnold und Wood (2).
- 164 Famulener und Lyons (35), S. 415.
- 165 Famulener und Lyons (35), S. 416.
- 166 Famulener und Lyons (35), S. 417.
- 167 Focke (36 - 51).
- 168 Focke (36), S. 44.
- 169 Focke (36), ebenda.
- 170 Focke (36), ebenda.
- 171 Focke (36), S. 45.
- 172 Focke (37, 38).
- 173 Vgl. Ziegenbein (195).
- 174 Focke (37), S. 134.
- 175 Focke (37), S. 135.
- 176 Vgl. Ziegenbein (195) und Fraenkel (54).
- 177 Focke (37), S. 135.
- 178 Focke (37), S. 141.
- 179 Focke (38).
- 180 Focke (38), S. 673.
- 181 Ziegenbein (195).
- 182 Fraenkel (54).
- 183 Vgl. Focke (38), S. 682 - 688.
- 184 Vgl. Keller (103).
- 185 Handelsbericht von Gehe und Co. (59), Ziegenbein (195), S. 466.
- 186 Focke (38), S. 686.
- 187 Focke (38), S. 687.
- 188 Focke (39 - 51).
- 189 Loewy (127).

- 190 Lutzkaja, S.: Über den Wirkungswert der Folia Digitalis; seine Bestimmung und seine Veränderung. Arch. internat. de Pharmacod., 18 (1908), S. 77 - 87.
- 191 Moschkowitsch (131).
- 192 Moschkowitsch (131), S. 360.
- 193 Moschkowitsch (131), ebenda.
- 194 Moschkowitsch (131), S. 369.
- 195 Moschkowitsch (131), S. 370.
- 196 Moschkowitsch (131), S. 370.
- 197 Kakowski (102).
- 198 Barger und Shaw (4).
- 199 Barger und Shaw (4), S. 254.
- 200 Dixon (23).
- 201 Santesson (163).
- 202 Straub (176).
- 203 Straub (177), S. 407.
- 204 Haynes (86).
- 205 Edmunds (30, 31) und Hale (68).
- 206 Edmunds (30).
- 207 Edmunds und Hale (31).
- 208 Vgl. Ziegenbein (195), Famulener und Lyons (35), Barger und Shaw (4), Focke (38), Reed (154).
- 209 Edmunds und Hale (31), S. 32.
- 210 Edmunds und Hale (31), S. 42 f.
- 211 Edmunds und Hale (31), S. 44.
- 212 Edmunds und Hale (31), S. 45 f.
- 213 Edmunds und Hale (32), S. 47 f.
- 214 Edmunds und Hale (31), S. 52 f.
- 215 Gottlieb (64).
- 216 Gottlieb (66).
- 217 Schmiedeberg (167).
- 218 Burmann (17).
- 219 Burmann (17), S. 411.
- 220 Burmann (17), S. 412, vgl. auch Moschkowitsch (131).
- 221 Burmann (18), S. 176.
- 222 Holste (88).
- 223 Gorfein (63).
- 224 S. Edmunds und Hale (31).
- 225 Hale (68).
- 226 Famulener und Lyons (35), s. dort.
- 227 Haskell (77).
- 228 Haskell (78).



- 229 Hartung (76).
- 230 Vgl. auch Boehm (12).
- 231 Hartung (76), S. 162.
- 232 Weis (186).
- 233 Rapp (152).
- 234 Walter (184).
- 235 Bomhard (13).
- 236 Bomhard (13), S. 42.
- 237 Lehnert (117).
- 238 Santesson (164).
- 239 Berry (8).
- 240 Berry (8), S. 783.
- 241 Siehe: Berry, Edgar: Standardisation of Digitalis preparations.  
Pharm. J., London, 103 (1919), S. 69 - 71.
- 242 Rowe (157).
- 243 Rowe (159, 160).
- 244 Paranjpe (139).
- 245 Joachimoglu (97 - 100).
- 246 Dooley (26, 27).
- 247 Kuroda (114), S. 232.
- 248 Kuroda (114), S. 236 f.
- 249 Chopra (21).
- 250 Lendle (118).
- 251 Lendle (118), S. 36 f.
- 252 Lendle (118), S. 37 f.
- 253 Kakowski (102).
- 254 Hatcher (82 - 85).
- 255 Hatcher (82).
- 256 Hatcher (83).
- 257 Hatcher (83), S. 361.
- 258 S. z. B. Hatcher (83), S. 363.
- 259 Hatcher (84).
- 260 Edmunds und Hale (31).
- 261 Eckler (29).
- 262 Eggleston (32).
- 263 Eggleston (32), S. 122.
- 264 Rowntree und Macht (162).
- 265 Lind van Wijngaarden (121 - 126).
- 266 Lind van Wijngaarden (122).
- 267 Lind van Wijngaarden (122), S. 255.
- 268 Lind van Wijngaarden (122), S. 259 u. (123).
- 269 Lind van Wijngaarden (122), ebenda.

- 270 Rowe (157).
- 271 Rowe (158).
- 272 Rowe (158), S. 902.
- 273 Rowe (158), S. 910.
- 274 Sluyters (173).
- 275 Bliss (11).
- 276 Lewis (120).
- 277 Dooley (26).
- 278 Newcomb (133).
- 279 Dauphinée (22).
- 280 Haskell (79), S. 819 f.
- 281 Arnold und Wood (2).
- 282 Arnold und Wood (2), S. 173 f.
- 283 Arnold und Wood (2), S. 177.
- 284 Arnold und Wood (2), S. 178.
- 285 Etienne (33).
- 286 Berardi (6, 7).
- 287 Berardi (6).
- 288 S. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis (208), S. 577.
- 289 Reed (154).
- 290 Edmunds und Hale (31).
- 291 Chevalier (20).
- 292 Vgl. Schwarz (224) und Knaffl-Lenz (104).
- 293 Jaquet (95), s. a. unter 2.1.4.1.
- 294 Bühner (16).
- 295 Bühner (16).
- 296 Freund (58).
- 297 Sowton (174).
- 298 Sowton (174), S. 310.
- 299 Niculescu (134).
- 300 Niculescu (134), S. 282.
- 301 Niculescu (134), S. 286.
- 302 Edmunds und Hale (31).
- 303 Heinz (87).
- 304 Heinz (87), S. 1.
- 305 Heinz (87), S. 13.
- 306 Krogh (112).
- 307 S. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis (208), S. 577.
- 308 Hanzlik (70 - 75).
- 309 Hanzlik (70, 71).
- 310 Wentz (187).
- 311 Zeigler (194).

- 312 Zeigler (194), S. 1191 f.
- 313 Pittenger (146, 147).
- 314 Schneider (170).
- 315 Macht (128).
- 316 Focke (36).
- 317 Pardee (140), S. 186.
- 318 Pardee (140), S. 187.
- 319 Knaffl-Lenz (105).
- 320 Knaffl-Lenz (105), S. 27 - 29.
- 321 Knaffl-Lenz (105), S. 32.
- 322 Knaffl-Lenz (105), S. 36.
- 323 Trevan (181), Burn (19), vgl. auch Knaffl-Lenz (105), S. 12 - 14.
- 324 Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis (208), S. 576.
- 325 Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis (208), ebenda.
- 326 Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis (208).
- 327 F. Kaiser, Boehringer-Mannheim; persönl. Mitteilung Aug. 1980. Vgl. auch Schaumann (223), S. 1269.



## 5. LITERATUR

### a) Quellen

- 1 Ackermann, Theodor: Über die Wirkungen des Digitalins auf den Kreislauf und die Temperatur. Berl.klin.Wschr. 9 (1872) S. 27 - 28.
- 2 Arnold, John P.,  
Horatio C. Wood jr.: A comparative study of Digitalis and its Derivatives. Amer.J.Med.Sciences 120 (1900) S. 165 - 183.
- 3 Bardet, G.: Activité comparée des principes actifs de la digitale. Bull.et Mém. de la Soc.de Thérap. Paris. 2.Ser. 16 (1889) S. 253 - 264.
- 4 Barger, George,  
W. Vernon Shaw: The chemical and physiological Assay of Digitalis tinctures. Pharm.J.Trans. 73 (1904) S. 249 - 254.
- 5 Bennefeld, Fr.: Über Digitalis-Tincturen. Comparativ-experimentelle Untersuchungen. Diss.med. Göttingen 1881.
- 6 Berardi, J. B.,  
M. C. Canan, H. McGuigan: A simple therapeutic method for the Standardization of Digitalis. J.Lab.Clin.Med. 10 (1925) S. 661 - 664.
- 7 Berardi, J. B.: Chemical and biological Assay of Drugs. Digitalis Standardization: under Anesthesia. J.Amer.Pharm.Ass. 15 (1926) S. 563 - 566.
- 8 Berry, Edgar: An Investigation of the active Principles of Digitalis Purpurea. Pharm.J.Trans. 95 (1915) S. 783 - 788.
- 9 Blake, James: Observations on the Physiological Effects of various Agents introduced in the Circulation, as indicated by the Haemodynamometer. Edinb.Med.Surg.J. 51 (1839) S. 330 - 351.
- 10 Blake, James: On the action of Digitalis. J.Physiol. 4 (1883) S. 365 f.
- 11 Bliss, A. Richard: An experimental investigation of the pharmacologic activity of drug store

- samples of infusion of digitalis.  
U.S.P. IX, J.Lab.Clin.Med. 7 (1921/22):  
S. 225 - 228.
- 12 Boehm, Rudolf: Untersuchungen über die physiologische Wirkung der Digitalis und des Digitalin.  
Pflügers Arch.ges.Physiol. 5 (1872)  
S. 153 - 191.
- 113 Bomhard, Heinrich: Wertbestimmungen von Digitalispräparaten.  
Diss.med. Erlangen 1914.
- 14 Brondgeest, P. G.: Dialysatum digitalis grandiflorae (Golaz), Digitalinum germanicum (Merck), Infusum herb. digitalis purpureae nach Versuchen am isolierten Froschherzen.  
Zentralbl.Inn.Med. 24 (1903) S. 906 - 909.
- 15 Brunton, Lauder T.,  
Adolph Bernhard Meyer: Action of Digitalis on the bloodvessels.  
J.Anat.Phys. 7 (1872/73) S. 135 - 138.
- 16 Bühner, C.: Über die Grenzen der Wirksamkeit einiger toxischer Fluidextrakte.  
Corresp.Schweiz. Ärzte 30 (1900)  
S. 617 - 629;  
auch: Diss.med. Basel 1900.
- 17 Burmann, James: Einige Bemerkungen über die physiologische Titration der Digitalisblätter und -präparate.  
Schweizer.Wschr. Chemie Pharm. 1910  
S. 410 - 413.
- 18 Burmann, James: Du titrage physiologique des préparations de digitale après la méthode de Focke.  
Rev.méd. Suisse Rom. 31 (1911)  
S. 162 - 176.
- 19 Burn, Joshua Herold: Biologische Auswertungsmethoden.  
Deutsche Übers. v. Edith Bülbring,  
Berlin 1937.
- 20 Chevalier, J.: Sur la détermination physiologique de la valeur des préparations galéniques de digitale.  
Bull.gén.de thérap.Paris 159 (1910)  
S. 381 - 393.

- 21 Chopra, R. N.,  
Premankur De:  
Biological assay of Digitalis preparations in the Tropics.  
*Indian J.Med.Research* 13 (1925) S. 781 - 787.
- 22 Dauphinée, J. A.:  
The physiological value of British Columbia foxgloves.  
*Amer.J.Pharm.* 96 (1924) S. 796 - 804.
- 23 Dixon, W. E.:  
The Bio-Chemical Standardisation of Drugs.  
*Pharm.J.Trans.* 75 (1905) S. 155 - 157.
- 24 Donaldson, Henry H.,  
Lewis T. Stevens:  
The influence of Digitaline on the work of the heart and on the flow through the blood-vessels.  
*J.Physiol.* 4 (1883) S. 165 - 197.
- 25 Dooley, M. S.:  
A note on the assay of digitalis preparations.  
*NY State J.Med.* 18 (1918) S. 486 f.
- 26 Dooley, M. S.,  
C. D. Highley:  
An intramuscular method of digitalis assay.  
*Proc.exp.Biol.Med.* 19 (1921-22) S. 250 - 252.
- 27 Dooley, M. S.,  
C. D. Highley:  
Assay of digitalis by intramuscular injection in the frog.  
*J.Amer.Pharm.Ass.* 11 (1922) S. 911 - 918.
- 28 Dybkowsky, W.,  
E. Pelican:  
Physiologische Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Herzgifte.  
*Zschr.wissensch.Zool.* 11 (1862) S. 279 - 286.
- 29 Eckler, C. R.:  
Experiments with the cat method for testing digitalis and its allies.  
*J.Amer.Pharm.Ass.* 1 (1912) S. 715 - 724.
- 30 Edmunds, Charles Wallis:  
The Standardization of Cardiac Remedies.  
*J.Amer.Med.Ass.* 48 (1907) S. 1744 - 1747.
- 31 Edmunds, Charles Wallis,  
The physiological Standardization of digitalis.  
*Bull.Nr. 48 Hygien.Labor. Treasury Department. U.S.Public Health and Marine Hospital Service. Washington* 1909.

- 32 Eggleston, Cary: Biological standardization of the digitalis bodies by the Cat method of Hatcher.  
Amer.J.Pharm. 85 (1913) S. 99 - 122.
- 33 Etienne, Georges: Recherches comparatives de la plus petite dose mortelle de divers dérivées et préparations de la Digitale.  
Arch.méd.expér.anat.path. 20 (1908) S. 366 - 396.
- 34 Fagge, Charles Hilton, Thomas Stevenson: On the application of physiological tests for certain Organic Poisons, and especially Digitaline.  
Proc. Royal Soc. London 14 (1865) S. 270 - 274.
- 35 Famulener, L. W., A. B. Lyons: Relative strength of the various preparations of the digitalis and kindred drugs as shown by experiments on frogs.  
Proc.Amer.Pharm.Ass. 50 (1902) S. 415 - 425.
- 36 Focke, C.: Über die jahreszeitlichen Schwankungen der Stärke der offizinellen Folia Digitalis. Eigene Beobachtungen und Historisches.  
Ther.Gegenw. 43 (1902) S. 44 - 47.
- 37 Focke, C.: Die physiologische Wertbestimmung der Digitalisblätter.  
Arch.Pharm. 241 (1903) S. 128 - 142.
- 38 Focke, C.: Näheres über die Wertbestimmung der Digitalisblätter und über das Verhältnis des Giftwertes zum Digitoxingehalt.  
Arch.Pharm. 241 (1903) S. 669 - 689.
- 39 Focke, C.: Zur Physiologischen „Werteinstellung“ der Digitalisblätter.  
Ther.Gegenw. 45 (1904) S. 250 - 253 u. S. 527.
- 40 Focke, C.: Über den praktischen Wert unserer Digitalis-Tinktur.  
Dtsch.Ärzte-Zeitung 6 (1904) S. 272 - 275 u. S. 291 - 294.
- 41 Focke, C.: Welchen Wert haben Digitalis-Froschversuche für die Praxis?



- 42 Focke, C.: Berl.klin.Wschr. 47 (1906) S. 642  
Weiteres zur physiologischen Prüfung der Digitalisblätter.
- 43 Focke, C.: Arch.Pharm. 245 (1907) S. 646 - 656.  
Betrachtung der neueren in- und ausländischen Arbeiten über die Digitalisprüfung.
- 44 Focke, C.: Arch.Pharm. 248 (1910) S. 365 - 374.  
Die kurzzeitige Injektionsmethode der physiologischen Digitalis- und Strophanthusprüfung.
- 45 Focke, C.: Arch.Pharm. 248 (1910) S. 345 - 364.  
Internationales betreffend Digitalis-Valor und Pharmakopoe.
- 46 Focke, C.: Arch.Pharm. 248 (1910) S. 345 - 364.  
Der jetzige Stand der physiologischen Digitalisprüfung, ihr Wert für die Praxis und für die Forschung.
- 47 Focke, C.: Zschr.exp.Path.Ther. 7 (1910) S. 1 - 7.  
Zur Digitalisprüfung am Froschherzen, insbesondere zur wechselnden Widerstandsfähigkeit der Temporarien gegen Digitalis.
- 48 Focke, C.: Zschr.exp.Path.Ther. 9 (1911) S. 97 - 102.  
Die hohe Bedeutung der Folia Dig. titrata und ihre Vergleichung mit anderen Digitalispräparaten.
- 49 Focke, C.: Ther.Gegenw. 53 (1912) S. 201 - 208 u. S. 249 - 258.  
Die Weiterentwicklung der physiologischen Digitalisprüfung.
- 50 Focke, C.: Zschr.exp.Path.Ther. 14 (1913) S. 262 - 309.  
Weitere Schritte zur Gleichmäßigkeit der officinellen Digitalispräparate.
- 51 Focke, C.: Zschr.exp.Path.Ther. 16 (1914) S. 443 - 466.  
Über die physiologische Wertmessung des Digitalysats.
- Zschr.exp.Path.Ther. 18 (1916) S. 382 - 391.

- 52 Fouquet, J.: Etude sur la valeur comparée des diverses digitalines du commerce. Bull.gén.thérap.méd.chir. 122 (1892) S. 71 - 82.
- 53 Fränkel, Albert: Experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit der verschiedenen Digitalispräparate. Charité-Ann. 6 (1880) S. 207 - 227.
- 54 Fränkel, Albert: Über die physiologische Dosierung von Digitalispräparaten. Ther.Gegenw. 4 (1902) S. 106 - 112.
- 55 François-Franck, Ch.-A.: Recherches expérimentales et critiques sur l'action cardiaque de la digitale et des digitalines. Bull.Acad.de Méd.Paris 3. Ser. 34 (1895) S. 17 - 32.
- 56 Fraser, Thomas R.: On the Kombé Arrow-Poison (Strophanthus hispidus D. C.) of Africa. J.Anat.Phys. 7 (1872) S. 139 - 155
- 57 Fraser, Thomas R.: Strophanthus hispidus. Part I: Its Natural History and Chemistry. Part II: Pharmacology. Trans.Royal Soc.Edinburgh 35 (1890) S. 955 - 1028, 36 (1891) S. 343 - 458.
- 58 Freund, R.: Über Abyssinin und sein Vergleich mit einigen Digitalispräparaten. Zschr.exp.Path.Ther. 1 (1905) S. 557 - 568.
- 59 Gehe & Co.: Handelsbericht von Gehe & Co. Dresden-Neustadt, April 1898.
- 60 Gley, E., L. Lapique: Recherches sur l'action physiologique d'un poison de flèche (L'inée ou Strophanthus hispidus). Compt.rend.Soc.Biol. 4 (1887) S. 421 - 425.
- 61 Gley, E.: Sur la toxicité comparée de l'ouabaine et de la strophantine. Compt.rend.hebd.séances Acad.Scienc. 107 (1888) S. 348 - 351
- 62 Gley, E., P. Rondeau: Sur l'action physiologique de l'ouabaine. Compt.rend.Soc.Biol. 35 (1888) S. 421.

- 63 Gorfein, Magnus: Über das Verhalten des Herzens von *Rana temporaria* und *Rana esculenta* unter der Einwirkung der Stoffe der Digitalingruppe.  
Diss.med. Straßburg 1911.
- 64 Gottlieb, R.: Über die physiologische Wertbestimmung von Arzneimitteln.  
Münch.Med.Wschr. 55 (1908) S. 1265 - 1270.
- 65 Gottlieb, R.,  
R. Tambach: Über Digipuratum.  
Münch.Med.Wschr. 58 (1911) S. 10-13.
- 66 Gottlieb, R.: Über die Methodik der Wertbestimmung von Digitalispräparaten am Frosch.  
Münch.Med.Wschr. 61 (1914) S. 813 - 818.
- 67 Gottlieb, R.: Über den Vergiftungs- und Entgiftungsvorgang bei der Digitalisvergiftung des Frosches, als Grundlage zur Beurteilung der Auswertungsmethoden.  
Arch.exp.Path.Pharm. 83 (1918) S. 117 - 155.
- 68 Hale, Worth: Digitalis standardization and the variability of crude and of medicinal preparations.  
Bull. Nr. 74 Hygien. Labor Treasury Department. U.S.Public Health and Marine Service, Washington 1911 S. 1 - 53.
- 69 Hamilton, Herbert C.: The biologic methods for digitalis assay.  
Amer.J.Pharm. 92 (1920) S. 529 - 537.
- 70 Hanzlik, P. J.,  
H. A. Shoemaker: Emetic dose of Digitalis in pigeons as an index of the therapeutic dose in man.  
Proc.Soc.Exp.Biol. 23 (1925/26) S. 298.
- 71 Hanzlik, P. J.: A new method of estimating the potency of digitalis: pigeon-emesis.  
J.Pharm.exp.Ther. 35 (1929) S. 363 - 391.
- 72 Hanzlik, P. J.,  
A. B. Stockton: Results with the pigeon-emesis method of estimating the probable therapeutic dose of digitalis.  
J.Pharm.exp.Ther. 35 (1929) S. 393 - 407.

- 73 Hanzlik, P. J., D. A. Wood: The mechanism of digitalis-emesis in pigeons.  
J.Pharm.exp.Ther. 37 (1929/30) S. 67 - 100.
- 74 Hanzlik, P. J., S. S. Davis: Notes on the importance of exact preparation of tincture of digitalis and on the number of pigeons in the pigeon-emesis method.  
J.Pharm.exp.Ther. 41 (1931) S. 5 - 10.
- 75 Hanzlik, P. J.: The use of therapeutic effects as end-points in the biologic titration of the digitalis bodies.  
J.Pharm.exp.Ther. 41 (1931) S. 383 - 385.
- 76 Hartung, C.: Zur Frage der Wertbestimmung von Digitalispräparaten.  
Arch.exp.Path.Pharm. 69 (1912) S. 149 - 175.
- 77 Haskell, Charles C.: Physiological methods for the standardization of digitalis.  
Amer.J.Pharm. 83 (1911) S. 201 - 211.
- 78 Haskell, Charles C., D. S. Daniel, G. S. Terry: Deterioration of the Tincture of Digitalis.  
J.Amer.Pharm.Ass. 11 (1922) S. 918 - 922.
- 79 Haskell, Charles C., R. H. Courtney: The accuracy of the cat method for the assay of digitalis.  
Amer.J.Med.Sci. 167 (1924) S. 816 - 820.
- 80 Haskell, Charles C., J. R. Copenhaver et al: The use of dogs in the assay of digitalis; a comparison with the results obtained on cats.  
J.Lab.Clin.Med. 14 (1928/29) S. 155 - 159.
- 81 Haskell, Charles C.: The influence of the anesthetic on the results of digitalis assay by the cat method of Hatcher and Brody.  
J.Pharm.exp.Ther. 58 (1936) S. 111 - 117.
- 82 Hatcher, Robert A.: Tincture of Strophanthus.  
J.Amer.Med.Ass. 48 (1907) S. 1177 f.

- 83 Hatcher, Robert A.,  
L. G. Brody:  
84 Hatcher, Robert A.,  
C. Eggleston:  
85 Hatcher, Robert A.:  
86 Haynes, G. S.:  
87 Heinz, R.:  
88 Holste, Arnold:  
89 Houghton, E. M.:  
90 Houghton, E. M.:  
91 Houghton, E. M.:  
92 Houghton, E. M.,  
H. C. Hamilton:  
93 Husemann, Theodor:  
94 Issekutz, Béla sen.:  
95 Jaquet, A.:
- The biological standardization of drugs.  
Amer.J.Pharm. 82 (1910) S. 360 - 372.  
Observations on the keeping properties  
of digitalis and some of its preparations.  
Amer.J.Pharm. 85 (1913) S. 203 - 214.  
Standardization of digitalis — A preli-  
minary Report.  
J.Amer.Pharm.Ass. 8 (1919) S. 913 f.  
The pharmacological action of Digita-  
lis, Strophanthus and Squill on the  
Heart.  
Bio-Chem.J. 1 (1906) S. 62 - 87.  
Wertbestimmung von Digitalispräpara-  
ten.  
Mercks Jahresb. 26 (1912) Suppl. S. I  
- XX.  
Über die Bestimmung des pharmakolo-  
gischen Wirkungswertes der Blätter von  
Digitalis purpurea.  
Arch.exp.Path.Pharm. 66 (1911) S. 161  
- 170.  
The pharmacological assay of the heart  
tonics.  
Amer.Med.Ass. 31 (1898) S. 959 - 961.  
Are the fluid preparations of digitalis  
active when manufactured into tablets?  
Therap.Gaz. 14 (1898) S. 217 - 220.  
Proposed international standards for  
the physiological assay of the heart  
tonics of the digitalis series.  
Lancet 1909, 1 S. 1744 - 1747.  
The pharmacological assay of the heart  
tonics.  
Amer.J.Pharm. 81 (1909) S. 461 - 474.  
Handbuch der gesamten Arzneimittel-  
lehre, Bd. 2, Berlin, 1874/75.  
Vergleichende Untersuchungen über  
die Resorption und Wirkung der Digi-  
talispräparate.  
Ref. Zentralbl.Biochem.Biophys. 20  
(1918) S. 316.  
Über die pharmakodynamische Wir-

- kung einiger Pflanzendialysate.  
 Korresp.Bl.Schweiz.Ärzte 27 (1897)  
 S. 326 - 338, und 28 (1898) S. 745 -  
 761.
- 96 Jaquet, A.:  
 Zur Frage der physiologischen Wertbe-  
 stimmung der Digitalispräparate.  
 Schweiz.med.Wschr. 56 (1926) S. 639 -  
 641.
- 97 Joachimoglu, G.:  
 Die pharmakologische Auswertung der  
 Digitalisblätter.  
 Berl.klin.Wschr. 56 (1919) S. 1212.
- 98 Joachimoglu, G.:  
 Die pharmakologische Auswertung der  
 Digitalispräparate.  
 Dtsch.med.Wschr. 46 (1920) S. 935 -  
 937.
- 99 Joachimoglu, G.:  
 Weitere Erfahrungen über Digitalis.  
 Arch.exp.Path.Pharm. 91 (1921)  
 S. 156 - 169.
- 100 Joachimoglu, G.:  
 Pharmakologische Auswertung einiger  
 Digitalis-Spezialpräparate.  
 Dtsch.med.Wschr. 54 (1928) S. 1585  
 u. 56 (1930) S. 50.
- 101 Johnstone, James:  
 James Johnstones physiologische und  
 pathologische Untersuchungen über das  
 Nervensystem nebst dessen Versuchen  
 und Beobachtungen aus der praktischen  
 Heilkunde. Samt John Johnstones Ab-  
 handlungen über die Gifte des Mineral-  
 reiches.  
 A.d.Engl.mit Anmerkungen hrsg. von  
 Christian Friedrich Michaelis.  
 Leipzig, 1796.
- 102 Kakowski, A.:  
 Über den direkten Einfluß verschiede-  
 ner Substanzen auf das Herz.  
 Arch.Internat.Pharmacod. 15 (1905)  
 S. 21 - 149; auch: Diss.med. Jurjew  
 1904.
- 103 Keller, C. C.:  
 Über die Wertbestimmung von Drogen  
 und galenischen Präparaten.  
 Diss.med. Zürich 1897.
- 104 Knaffl-Lenz, Erich:  
 The physiological assay of preparations  
 of digitalis.

- 105 Knaffl-Lenz, Erich: J.Pharm.exp.Ther. 29 (1926) S. 407 - 425.  
Die internationalen Methoden und Standards der biologischen Wertbestimmung.  
Leipzig 1928.
- 106 Knudsen, Arthur,  
Melvin Dresbach: A chemical method of assaying the active principles of digitalis.  
J.Pharm.exp.Ther. 20 (1922/23) S. 205 - 220.
- 107 Kobert, R.: Über die Bewertung der Digitalispräparate mit Hilfe biologischer Methoden.  
Apoth.Ztg. 70 (1914) S. 761 - 763.
- 108 Koch, Hugo: Biologische Wertbestimmung öligere Lösungen von Digitalin.  
Diss.med. Bern 1954.
- 109 Koppe, Robert: Untersuchungen über die pharmakologischen Wirkungen des Digitoxin, Digitalin und Digitalein.  
Arch.exp.Path.Pharm. 3 (1875) S. 274 - 301; auch: Diss.med. Dorpat 1874.
- 110 Krailsheimer, Robert: Beiträge zur Bestimmung des Wirkungswertes einiger Stoffe der Digitalin-Gruppe.  
Arch.exp.Path.Pharm. 62 (1910) S. 296 - 304.
- 111 Krogh, Marie: Physiologic standardization of Digitalis.  
J.Amer.Med.Ass. 68 (1917) S. 1672.
- 112 Krogh, Marie: On biological assay and biological analysis of the digitalis substances.  
In: Physiological Papers, dedicated to Prof. August Krogh, Hrsg. R.Ege u.a., 1926, S. 133 - 153.
- 113 Krogh, Marie: The assay of digitalis substances by biological methods.  
Acta med.scand. 26 (1928) Suppl. S. 512 - 516.
- 114 Kuroda, T.: Vergleichende Digitalisauswertung an Fröschen und Katzen.  
Arch.exp.Path.Pharm. 108 (1925) S. 230 - 237.

- 115 Laborde, Jean Baptiste  
Vincent: Les substances médicamenteuses considérées au point de vue de la pureté chimique et de l'activité physiologique; la Digitaline des Hôpitaux de Paris. Compt.rend.hebd.d.Séances et Mém. de la Soc.de Biol.Paris 36 (1884) S. 599 - 602.
- 116 Laborde, Jean Baptiste  
Vincent, H. Duquesnel: La Digitaline. Compt.rend.hebd.des Séances et Mém. de la Soc.de Biol. 36 (1884) S. 93 - 100.
- 117 Lehnert, Anton,  
Oswald Loeb: Physiologische Wertbestimmungen einiger Digitalispräparate. Therap.Monatsh. 28 (1914) S. 164 - 170.
- 118 Lendle, L.: Über die Wertbestimmung von per os verabreichten herzwirksamen Glykosiden am Frosch. Arch.exp.Path.Pharm. 109 (1925) S. 35 - 49.
- 119 Lenz, Ernst: Experimenta de ratione inter puls frequentiam, sanguinis pressionem lateralem et sanguinis fluentis celeritatem obtinente. Diss.med. Dorpat 1853.
- 120 Lewis, D. S., C. F. Moffatt: Standardization of certain preparations of digitalis. Canad.Med.Ass.J. 11 (1921) S. 755 - 758.
- 121 Lind van Wijngaarden, C. de: Controle des feuilles de digitale. Arch.neerl.Physiol. 9 (1924) S. 419 - 421.
- 122 Lind van Wijngaarden, C. de: Untersuchungen über die Wirkungsstärke von Digitalispräparaten; die Wertbestimmung an der Katze. Arch.exp.Path. 112 (1926) S. 252 - 260.
- 123 Lind van Wijngaarden, C. de: Über die Genauigkeit der Digitaliseichung an der Katze. Arch.exp.Path. 113 (1926) S. 40 - 58.
- 124 Lind van Wijngaarden, C. de: Über die Aufbewahrung von Digitalisblätterpulvern. Arch.exp.Path. 133 (1926) S. 59 - 65.



- 125 Lind van Wijngaarden, C. de: Der Einfluß von Alkohol; Untersuchungen über die Wirkungsstärke von Digitalispräparaten.  
Arch.exp.Path. 114 (1926) S. 21 - 23.
- 126 Lind van Wijngaarden, C. de: Chemische Eichungsmethoden von Digitalispräparaten.  
Arch.exp.Path. 126 (1927) S. 135 - 142.
- 127 Löwy, Julius: Über die Bedeutung der Reaktion des Digitalisinfuses für seine Wirksamkeit.  
Wien.klin.Wschr. 19 (1906) S. 1157 - 1160.
- 128 Macht, David J.,  
John C. Krantz jr.: A phytopharmacological method of assaying digitalis.  
J.Amer.Pharm.Ass. 13 (1924) S. 1115 - 1117, u. 16 (1927) S. 210 - 218.
- 129 Masi, G. B.: Sull' azione fisiologica della digitalina.  
Ref.in: Schmidts Jahrbücher 229 (1893) S. 133.
- 130 Miller, F. A., W. F. Baker: The potency of first year cultivated digitalis leaves as indicated by physiological assay.  
J.Amer.Pharm.Ass. 2 (1913) S. 198 - 201.
- 131 Moschkowitsch, H. F.: Zur Wertbestimmung der Präparate der Folia Digitalis.  
Arch.Pharm. 241 (1903) S. 358 - 371.
- 132 Mosebach, Harald: Pharmakologische Wertbestimmung von Digitalisblättern.  
Diss.med. Bonn 1934.
- 133 Newcomb, E. L.,  
E. B. Fischer: The assay of Minnesota and other samples of digitalis.  
J.Amer.Pharm.Ass. 14 (1925) S. 669 - 673.
- 134 Niculescu, Maria,  
Peter Niculescu: Wertbestimmung und pharmakodynamische Wirkung von Herzmitteln.  
Zschr.exp.Path. 11 (1912) S. 276 - 293.
- 135 Nothnagel, H.,  
M. J. Rossbach: Handbuch der Arzneimittellehre.  
Berlin, 1878.
- 136 O'Brien, J.B.,  
J. P. Snyder: Deterioration of High Test American grown Digitalis.  
J.Amer.Pharm.Ass. 8 (1919) S. 914 - 919.

- 137 Orfila, Matheo Jose: Allgemeine Toxikologie oder Giftkunde. Bd. 1 - 4. Aus d. Franz. v. Sigism. Friedr. Hermbstädt, Berlin 1818.
- 138 Palm, R.: The Separation and Estimation of Digitalin, Digitaleine and Digitine. Amer.Drug. 13 (1884) S. 189.
- 139 Paranjpe, A.: Vergleichende Versuche über die Resorptionsgeschwindigkeit von Digitalispräparaten aus den Lymphsäcken des Frosches. Arch.exp.Path.Pharm. 85 (1919/20) S. 109 - 122.
- 140 Pardee, Harold E. B.: The standardization of digitalis by its action on the human heart; preliminary report. J.Amer.Med.Ass. 81 (1923) S. 186 - 188.
- 141 Patch, E. L.: Is there a reliable Process for Assay of Digitalis? Proc.Amer.Pharm.Ass. 39 (1891) S. 151 - 155.
- 142 Pearson, William A.: The physiological standardization of the heart tonics. Amer.J.Pharm. 86 (1914) S. 61 - 71.
- 143 Perrier, Henri: Über die Wirkungen des Toxiresins und des Digitaliresins auf den tierischen Organismus. Übers. v. Erich Harnack. Arch.exp.Path.Pharm. 4 (1875) S. 191 - 206.
- 144 Pfaff, Franz: Vergleichende Untersuchungen über die diuretische Wirkung der Digitalis und des Digitalins an Menschen und Thieren. Arch.exp.Path.Pharm. 32 (1893) S. 1 - 37.
- 145 Piotrowska, Mathilde: Toxicité comparée des substances du groupe de la digitaline selon la voie d'administration hypodermique, veineuse ou gastrointestinale. Diss. med. Genf 1896.
- 146 Pittenger, Paul S., C. E. Vanderkleed: Preliminary note on a new pharmacodynamic assay method, Carassius aura-

- tus (Gold fish) as test animals for the Digitalis series.  
J.Amer.Pharm.Ass. 4 (1915) S. 427 - 433.
- 147 Pittenger, Paul S.: Preliminary note on a new pharmacodynamic assay method, Carassius auratus (Gold fish) as test animals for the Digitalis series.  
J.Amer.Pharm.Ass. 8 (1919) S. 839 - 900.
- 148 Polaillon, Joseph François Benjamin, C. Carville: Etude physiologique sur les effets toxiques de l'Inée, poison des Pahouins (Gabon).  
Arch.Physiol.norm.path. 4 (1872) S. 680 - 709.
- 149 Pratt, Joseph H.: On the importance of determining the potency of digitalis preparations.  
Boston Med.Surg.J. 163 (1910) S. 279 - 283.
- 150 Prevost, J. L.: Essais pharmacologiques sur quelques préparations de la Pharmacopée helvétique, Edition III.  
Rev.Méd.Suisse Rom. 13 (1893) S. 505 - 537.
- 151 Prevost, J. L.: Nouveaux essais pharmacologiques sur quelques préparations de la Pharmacopée helvétique.  
Rev.Méd.Suisse Rom. 15 (1895) S. 453 - 463.
- 152 Rapp, : Über die physiologische Wertbestimmung der Digitalisblätter und über die Enzyme der Digitalispräparate.  
Zschr.angew.Chem. 27 (1914) S. 853 - 855.
- 153 Redonnet, Thomas Alday: Die sog. Titrierung der Digitalispräparate an Fröschen.  
Korresp.Bl.Schweiz.Ärzte 47 (1917) S. 974 - 978.
- 154 Reed, E. D.: The standardization of preparations of digitalis by physiological and chemical means.  
Amer.J.Pharm. 80 (1908) S. 110 - 120.

- 155 Reusing, Hans: Über die Einwirkung des Strophanthin auf das Froschherz.  
Diss. med. Würzburg 1889.
- 156 Roth, George B.: Digitalis standardization; the physiological evaluation of fatfree digitalis and commercial digitalin.  
Bull. Nr. 102 Hygien. Labor. Treasury Department, U.S.Public Health and Marine Service, Washington 1916.
- 157 Rowe, L. W.: What is the best End-Point of the Reaction in the Frog-Heart Method of Digitalis Assay?  
J.Amer.Pharm.Ass. 4 (1915) S. 108 - 112.
- 158 Rowe, L. W.: Digitalis standardization; a consideration of certain methods of biological assay.  
J.Amer.Pharm.Ass. 8 (1919) S. 900 - 912.
- 159 Rowe, L. W.: The colorimetric assay of digitalis.  
J.Amer.Pharm.Ass. 16 (1927) S. 510 - 516.
- 160 Rowe, L. W.: Notes on digitalis standardization.  
J.Amer.Pharm.Ass. 17 (1928) S. 645 - 647.
- 161 Rowe, L. W.: Digitalis assay standards.  
J.Amer.Pharm.Ass. 18 (1929) S. 1138 - 1142.
- 162 Rowntree, L. G.: The standardization of digitalis and the potency of American grown digitalis.  
J.Amer.Med.Ass. 66 (1916) S. 870 f.
- 163 Santesson, C. G.: Einige Bemerkungen über die Wirkungsintensität der Semina und der Tinctura Strophanti aus schwedischen Apotheken.  
Skand.Arch.Phys. 17 (1905) S. 389 - 413.
- 164 Santesson, C. G.: Die Methoden für experimentelle Prüfung der Stärke der Digitalispräparate.  
Nord.med.Ark. 3.F. 15 (1915) S. 1 - 25.
- 165 Schiemann, Karl-Christian: De digitali purpurea.  
Diss.med. Göttingen 1786.

- 166 Schmiedeberg, Oswald: Bemerkungen über die Digitalis- und Digitalinwirkung in historischer und therapeutischer Beziehung.  
Arch.exp.Path.Pharm. 16 (1883)  
S. 162 - 187.
- 167 Schmiedeberg, Oswald: Untersuchungen über die Bestimmung des pharmakologischen Wirkungswertes der getrockneten Blätter von Digitalis purpurea.  
Arch.exp.Path.Pharm. 62 (1910)  
S. 305 - 328.
- 168 Schmiedel, Roland: Die biologische Prüfung der Arzneimittel.  
Süddtsch.Apoth.Ztg. 10 (1914) S. 454.
- 169 Schneider: Finden Beziehungen zwischen dem spezifischen Gewichte und dem Trokensubstanz-Gehalte der Tincturen statt, und welchen Wert haben dieselben bei der Beurteilung ihrer vorschriftmäßigen Beschaffenheit?  
Arch.Pharm. 215 (1879) S. 412 - 420.
- 170 Schneider, Albert: A Paramerial method for the biologic assay for the Digitalis series.  
J.Amer.Pharm.Ass. 14 (1925) S. 128f.
- 171 Sharp, J. Gordon,  
J. Lancaster: Digitalis: Some points as to time of gathering of the leaves, and the keeping properties and standardisation of the tincture, etc.  
Pharm.J. 86 (1911) S. 102f.
- 172 Siebert: Wertbestimmung von Digitalis und Strophanthus durch Prüfung am Froschherzen.  
Berl.klin.Wschr. 44 (1903) S. 813f.
- 173 Sluyters, A.: Zur Wertbestimmung des Digitalisblattes.  
Berl.klin.Wschr. 56 (1919) S. 802f.
- 174 Sowton, S. C. M.: Some experiences in the testing of Tincture of Digitalis.  
Brit.Med.J. 1 (1908) S. 310 - 314.
- 175 Stannius, Hermann  
Friedrich S.: Untersuchungen über die Wirkung der Digitalis und des Digitalin.  
Arch.physiol.Heilk. 10 (1851) S. 177 - 209.

- 176 Straub, Walther: Dynamik des Froschherzventrikels bei nicht tödlicher Digitalisvergiftung. Zschr.exp.Path.Ther. 1 (1905) S. 489 - 512.
- 177 Straub, Walther: Quantitative Untersuchungen über den Chemismus der Strophantinwirkung. Biochem.Zschr. 28 (1910) S. 391 - 407.
- 178 Straub, Walther: Die Digitaliswirkung am isolierten Vorhof des Frosches. Arch.exp.Path.Pharm. 79 (1915) S. 19 - 29.
- 179 Tourdes, G.: Note sur les différences d'action des préparations de Digitale. Gaz.méd.Strasb. 27 (1867) S. 191f.
- 180 Traube, Ludwig: Gesammelte Beiträge zur Pathologie und Physiologie, 3 Bde. Berlin, 1871.
- 181 Trevan, J. W., E. Boock, J. H. Burn, J. H. Gaddum: The pharmacological assay of digitalis by different methods. Quart.J.Pharm. Lond. 1 (1928) S. 6 - 22.
- 182 Viehoveer, Arno: The Heart. Amer.J.Pharm. 100 (1928) S. 718 - 745.
- 183 Vulpian, Alfred: De l'action de la Digitaline sur les Batraciens. Gaz.méd.Paris, 3.Ser. 10 (1855) S. 599f.
- 184 Walter, Herbert: Über die Bewertung der Digitalispräparate mit Hilfe biologischer Methoden. Diss.med. Rostock 1914.
- 185 Wegmann, Alfred: Die Wertbestimmung des Digitalisblattpulvers am Meerschweinchen. Diss.med. Zürich 1951.
- 186 Weis, Edmund: Über den physiologischen Wirkungswert einiger Digitalispräparate. Österr.San.Wes. 22 (1912) Beilage, S. 161 - 215.
- 187 Wentz, Walter F.: Toxicity of Digitalis to white Rats. J.Amer.Pharm.Ass. 14 (1925) S. 774 - 778.
- 188 Williams, Francis: Über die Ursache der Blutdrucksteigerung bei der Digitalinwirkung.

- 189 Withering, William: Arch.exp.Path.Pharm. 13 (1880) S. 1 - 13.  
An Account of the Foxglove, and some of its Medical Uses: with Practical Remarks on Dropsy and other Diseases. London 1785.  
Nach d. engl. Ausgabe ins Deutsche übertr. hrsg. C. F. Boehringer, Mannheim, Leipzig 1929.
- 190 Wolff, A.: Über die physiologische Dosierung von Digitalispräparaten. Ther.Gegenw. 43 (1902) S. 423f.
- 191 Wolff, A.: Über die physiologische Dosierung von Digitalispräparaten. Ther.Gegenw. 44 (1903) S. 381 - 383.
- 192 Wolff, A.: Physiologische Wertbestimmung von Digitalisblättern. Ther.Gegenw. 45 (1904) S. 526.
- 193 Yernaux, Nestor: Sur le mécanisme de l'intoxication digitale. Arch.Intern.Pharmacodyn.Thérap. 18 (1908) S. 117 - 178.
- 194 Zeigler, W. H.: A criticism of the biologic methods for the standardization of digitalis, with a suggestion for a new method. J.Amer.Pharm.Ass. 5 (1916) S. 1188 - 1193.
- 195 Ziegenbein, H.: Wertbestimmung der Digitalisblätter. Arch.Pharm. 240 (1902) S. 454 - 470.
- 196 Zueblin, Ernest: The unstable qualities of digitalis preparations; experimental test and means of prevention related to therapeutic efficiency in cardiovascular disease. Med.Rec. 93 (1918) S. 366 - 370.

## **b) Sekundärliteratur**

- 197 Bähr, Bernhard: Digitalis purpurea in ihren physiologischen und therapeutischen Wirkungen unter besonderer Berücksichtigung des Digitalin, mit Benutzung der gesamten

- medizinischen Literatur monographisch dargestellt.  
Leipzig, 1859.  
100 Jahre Digitoxin.  
Die Pharmazie 24 (1969) S. 778 - 780.  
Tierversuche mit Arzneimitteln im  
18. Jahrhundert.  
Diss.med. Berlin 1936.
- 198 Baumgarten, G.:  
Coincidental Bicentennials: United  
States and Foxglove Therapy.  
J.Hist.Med. 31 (1976) S. 292 - 306.
- 199 Bernknopf, Pavel:  
Geschichtliche Entwicklung der experi-  
mentellen Medizin.  
Arch.path.Anat.Physiol. 132 (1893)  
S. 217 - 229 u. 133 (1893) S. 17 - 29.
- 200 Burchell, H. B.:  
Von der empirischen zur experimentel-  
len Digitalistherapie. Ein pharmakolo-  
gisch-klinischer Beitrag zu Straubs  
'150 Jahre Digitalis'.  
Schweiz.med.Wschr. 66 (1936) S. 434  
- 440.
- 201 Falk, F.:  
The place of William Withering in  
scientific medicine.  
J.Hist.Med. 8 (1953) S. 1 - 15.
- 202 Fränkel, Albert:  
Digitalis after two centuries.  
Arch.Surg. 111 (1976) S. 14 - 19.
- 203 Fulton, John F.:  
Die Entwicklung der Arzneimittelprü-  
fung im Spiegel der österreichischen  
Pharmakopoen von 1812 bis 1836; in:  
Otto Zekert, Kurt Ganzinger (Hrsg.):  
Beiträge zur Geschichte der Pharmazie  
in Österreich, Wien 1961 (= Veröffent-  
lichung der Internationalen Gesell-  
schaft für Geschichte der Pharmazie)  
N. F., Bd. 18.
- 204 Friend, Dale G.:  
200 Jahre Herztherapie mit Digitalis,  
William Withering und das erste Jahr-  
hundert Digitalistherapie.  
Dtsch.Med.Wschr. 100 (1975) S. 1980f.
- 205 Ganzinger, Kurt:  
Spiegel der Arznei.  
Berlin, Göttingen, Heidelberg 1956.
- 206 Grosse-Brockhoff, F.,  
T. U. Hausamen:  
Hagers Handbuch der Pharmazeuti-
- 207 Haas, Hans:
- 208 Hager:



- 209 Hahn, Ilse:  
schen Praxis, Band 4. S. 553 - 579,  
Berlin 1973.  
Tierversuche mit Arzneimitteln in der  
deutschen Fachliteratur von 1800 bis  
1830.  
Diss.med. Mainz 1969.
- 210 Hatt, P. Y.:  
Les Digitaliques, Historique et Généralités.  
Rev.Prat. 26 (1976) S. 3409 - 3411.
- 211 Heyen, Irmgard:  
Der historische Weg der Digitalis in der  
Neuzeit. Der Werdegang in England,  
Amerika, Frankreich und Deutschland.  
Diss.med. Köln 1952.
- 212 Hickel, Erika:  
Arzneimittel-Standardisierung im 19.  
Jahrhundert in den Pharmakopoen  
Deutschlands, Frankreichs, Großbri-  
tanniens und der Vereinigten Staaten  
von Amerika.  
Braunschweig 1971.
- 213 Issekutz, Bela:  
Geschichte der Arzneimittelforschung.  
Budapest 1971.
- 214 Kobert, Rudolf:  
Zur Geschichte der Digitalisbehandlung.  
Münch.med.Wschr. 1912 S. 1864 -  
1867.
- 215 Loosen, H.:  
Zweihundert Jahre Digitalis in ärztli-  
cher Hand.  
Med.Welt 1975 S. 1297.
- 216 Marks, Bernhard H.,  
A. M. Weissler (ed.):  
Basic and clinical Pharmacology of  
Digitalis.  
Springfield 1972.
- 217 Martin, Alfred:  
Zur Geschichte des Gebrauchs der Di-  
gitalis lanata und anderer Digitalisarten.  
Zschr.Kreislaufforsch. 29 (1937)  
S. 678 - 683.
- 218 Overhamm, Adelheid:  
Zur Geschichte des Digitalis unter be-  
sonderer Berücksichtigung ihrer äußer-  
lichen Anwendung.  
Diss.med. Marburg 1973.
- 219 Rahimtoola, S. H.:  
Digitalis and William Withering, the  
clinical Investigator.  
Circulation 52 (1975) S. 969 - 971.
- 220 Real, Horst Matthias:  
Die chemische Arzneimittelpfprüfung in

- deutschen Pharmakopöen bis 1872,  
Braunschweig 1970 (= Veröff.Pharmaziegeschichte.Seminar TU Braunschweig 11)
- 221 Roddis, Louis H.: William Withering and the Introduction of Digitalis into Medical Practise. Ann.med.Hist. 8 (1936) S. 94 - 112.
- 222 Rytand, D. A.: The Pulse, Digitalis, Diuretics and William Withering. J.chronic.Dis. 28 (1975) S. 1 - 5.
- 223 Schaumann, W., F. Kaiser: Schwierigkeiten bei der biologischen Wertbestimmung von Digitalis-Extrakten. Arzneimittel-Forschung 17 (1967) S. 1264 - 1266.
- 224 Schwarz, A. John: The standardization of digitalis. Amer.J.Pharm. 106 (1934) S. 196 - 210.
- 225 Seel, Hans: Der neueste Stand der Digitalisforschung. Erg.ges.Med. 15 (1931) S. 69 - 101.
- 226 Stenius, Rainer: Die Geschichte der Digitalis purpurea und ihre Bedeutung in der Medizin bis etwa zum Jahre 1870. Diss.med. Dresden 1916.
- 227 Stenius, Rainer: Die neue Geschichte der Digitalis purpurea. Arch.wiss.prakt.Tierheilk. 44 (1918) S. 381 - 420.
- 228 Straub, Walter: 150 Jahre Digitalis. Zschr.ärztl.Fortb. 32 (1935) S. 360 - 366.
- 229 Toulson, Robert H.: Highlights of the history of Digitalis. Med.Techn.Bull. 1 (1950) S. 18 - 22.
- 230 Van Liere, E. J.: Bicentennial of Digitalis. West.Virg.Med.J. 71 (1975) S. 283 f.
- 231 Van Prooijen, A. M.: Pharmacohistorische Studien: 24. Digitalis. Pharm.Tijdschr.Belgie 23 (1946) S. 2 - 7.

232 Winau, Rolf:

Experimentelle Pharmakologie und  
Toxikologie im 18. Jahrhundert.  
Habil.-Schrift Mainz 1971.

233 Zekert, Otto:

Zur Geschichte der Digitalis und Scilla.  
Pharmaz.Monatsh. 13 (1932) S. 108 -  
110, S. 132 - 134 u. S. 152 - 154.

