

IV.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.

Untersuchungen über den Synergismus von Giften.

IV. Die chemische Erregbarkeitssteigerung glatter Muskulatur.

Von

Hermann Fühner.

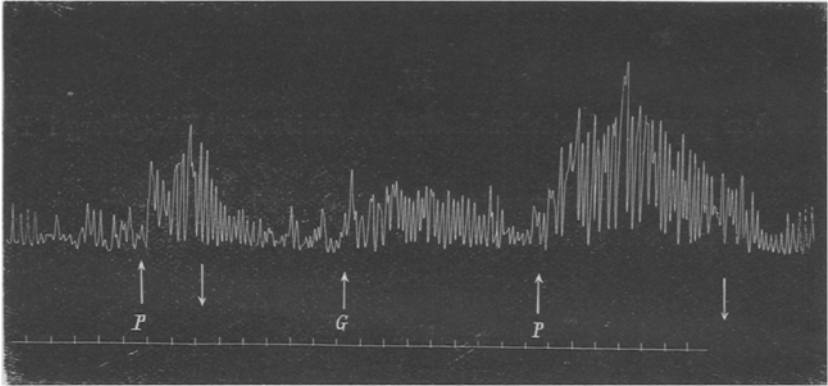
(Mit 32 Kurven.)

In einer 1915 gemeinsam mit M. Rehbein¹⁾ veröffentlichten Arbeit suchte ich festzustellen, ob Colchicin am isolierten Darm eine erregbarkeitssteigernde Wirkung gegenüber der erregenden Wirkung des Cholinmuskarins besitzt. Ich konnte eine solche nicht beobachten. Es fragte sich, ob vermittels der angewandten Methode Erregbarkeitssteigerungen am isolierten Warmblüterdarm überhaupt nachgewiesen werden können. Um dies zu entscheiden, habe ich zuerst Versuche mit dem bekanntesten »erregbarkeitssteigernden« Gifte, dem Physostigmin, angestellt; daneben solche mit Guanidin. Mit diesen kombinierte ich, als erregende Gifte, wiederum das Cholinmuskarin (Nitrosocholin), ferner Azetylcholin, Pilocarpin, Nikotin und Bariumchlorid.

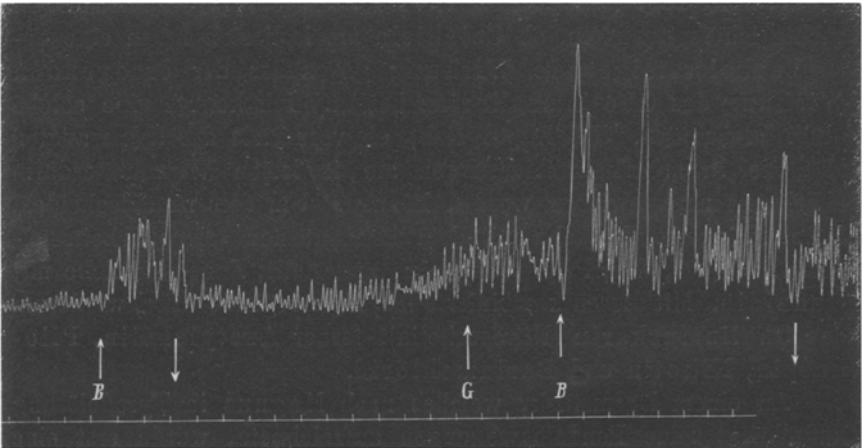
An einem Darmstück, welches nach Magnus in Tyrodelösung aufgehängt seine Pendelbewegungen aufzeichnete, wurde erst eine schwach wirksame Konzentration z. B. für Cholinmuskarin, wiederholt und unter Auswaschen, dann für Physostigmin festgestellt. Kombiniert wurden darauf gewöhnlich die halben, schwach wirksamen Mengen beider. Unter diesen und ähnlichen Bedingungen konnten bei den verschiedenen Substanzen geringe Verstärkungen, wie sie

1) H. Fühner und M. Rehbein, Untersuchungen über die Darmwirkung des Colchicins. Archiv f. experim. Path. u. Pharm. 79, 1 (1915).

Kurve 1 und 2 zeigen, aber durchaus nicht regelmäßig, beobachtet werden; ab und zu auch Abschwächungen. Jedenfalls waren die Resultate wechselnd und die Abweichungen von der rein additiven Wirkung niemals sehr groß.



Kurve 1. Kaninchen. Dickdarmstück in Tyrodelösung (150 ccm). Bei P $\frac{1}{100}$ mg Pilokarpinchlorhydrat. Bei G 10 mg Guanidinchlorhydrat. Zeit = Minuten. $\frac{3}{4}$ Originalgröße.



Kurve 2. Kaninchen. Dickdarmstück in Tyrodelösung (150 ccm). Bei B 1 mg Bariumchlorid. Bei G 10 mg Guanidinchlorhydrat. Zeit = Minuten. $\frac{2}{3}$ Originalgröße.

Nach Abschluß meiner Darmversuche erschien eine Arbeit von Bürgi und Moldowskaja¹⁾, in welcher am Kaninchendarm unter

1) E. Bürgi, Über Arzneigemische und ihre Wirkungen. Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. 18, 29 (1916). — L. Moldowskaja, Die Wirkung der Physostigmin- und Pilokarpinkombination auf den überlebenden Darm. Ebenda S. 31.

kombinierter Verwendung von Pilokarpin und Physostigmin in halben wirksamen Dosen bald Addition, bald Abschwächung der Wirkung beobachtet wurde, ein Ergebnis, das sich z. T. mit dem meinigen deckt. Sehr auffallend ist dann aber der weitere Befund, daß die beiden Gifte, bei Verringerung der Dosen, starke Wirkungspotenzierung ergeben sollen. Wenn auch die angestellten Versuche und die daraus gezogenen Schlüsse insofern nicht einwandfrei erscheinen, als die einzelnen gebrauchten Darmstücke, soweit ersichtlich, nicht vor Verwendung der Mischungen in ihrer Anspruchsfähigkeit gegenüber Pilokarpin und Physostigmin allein geeicht wurden — und eine solche Eichung ist, wie ich andernorts¹⁾ betont habe, für genaue quantitative Bestimmungen an isolierten Organen durchaus nötig —, so soll doch nicht die Möglichkeit einer derartigen Wirkungspotenzierung bestritten werden, angesichts der Beobachtungen von Straub und Caesar²⁾ mit Morphin-Narkotinmischungen wechselnder Zusammensetzung in ihrer tödlichen Wirkung an Mäusen und den Erfahrungen von Kochmann und Damköhler³⁾ über die narkotische Wirkung verschieden kombinierter Chloroform-Äthermengen.

Ich habe meine eigenen Darmversuche und ähnliche Versuche an Gebärmutterstücken verschiedener Tierarten vorerst nicht weiter fortgesetzt, nachdem ich gefunden hatte, daß sich an Stücken des Froschmagens und der Körpermuskulatur des Blutegels mit Mischungen der erwähnten Gifte z. T. außerordentlich viel stärkere Wirkungspotenzierungen erzielen lassen als an Warmblüterorganen. Die genannten Objekte erscheinen aus diesem Grunde zu einer Klärung der Frage des potenzierten Synergismus geeigneter als letztere.

Im folgenden sind bei der Besprechung der verschiedenen Gifte an erster Stelle meine zahlreichen Versuche am nervenzentrenfreien Blutegelpräparat wiedergegeben. Die im Anschluß daran angestellten Versuche am zentrenhaltigen Froschmagenstück dienten vor allem dem Zweck, zu prüfen, inwieweit sich an diesem die am einfacheren Objekte erhaltenen Resultate bestätigen lassen.

1) H. Fühner, Die quantitative Bestimmung des Cholins auf biologischem Wege. *Biochem. Zeitschr.* 77, 410 (1916).

2) W. Straub, Über Narkophin, ein rationelles Opiumpräparat. *Münch. med. Woch.* 1912, S. 1542. — H. Caesar, Quantitative Untersuchung der Toxizitätsänderung des Morphins bei Kombination mit anderen Opiumalkaloiden. *Biochem. Zeitschr.* 42, 316 (1912).

3) M. Kochmann, Über Chloroform- und Äthernarkose. *D. med. Woch.* 1913, S. 1934. — E. Damköhler, Über kombinierte Narkose. *III. Arch. intern. de Pharmacod. et de Thérapie* 23, 229 (1913).

Das Blutegelpräparat wurde in gleicher Weise hergestellt, wie ich¹⁾ es früher an anderer Stelle beschrieben habe und wie es in der nachfolgenden Abhandlung nochmals genauer angegeben ist. Es besteht aus einem in der Längsrichtung aufgeschnittenen mittleren Stück des Tieres, aus dem der Bauchstrang und der darunterliegende Darm entfernt sind. In den Versuchen gelangten die Kontraktionen der kräftig entwickelten Längsmuskulatur des Tieres in einer Länge von 10 Ringeln zur Aufzeichnung. Das Präparat schreibt bei optimaler Belastung des Schreibhebels eine horizontale Gerade. Nur in seltenen Fällen treten schwache spontane Kontraktionen auf.

Als Froschmagenpräparat fand ein aufgeschnittener Muskelring vom Magen großer Wasserfrösche Verwendung, wie in früheren Versuchen von Schultz und anderen, da bekanntlich die Längsmuskulatur des Froschmagens wenig entwickelt ist. Im Gegensatz zu Schultz²⁾ wurde die Magenschleimhaut bei meinen Präparaten nicht von der Muskelschicht entfernt. Die Frösche wurden in Zimmertemperatur gehalten und teils ungefüttert, teils mehrere Tage vor dem Versuche (mit Regenwürmern oder Froschmuskeln) gefüttert gebraucht. Das normale Froschpräparat zeigt häufig spontane, aber selten regelmäßige Eigenkontraktionen. Trotz der Fütterung sind dieselben bei Fröschen in den Wintermonaten meist schwach. Nicht oder schwach spontan tätige Organstücke geben bei vergleichender Prüfung erregender Giftwirkung regelmäßige Befunde als solche mit kräftiger Eigenbewegung.

Frosch- und Blutegelpräparat waren bei den Versuchen in zimmerwarmer, froschisotonischer Ringerlösung (NaCl 6,0, CaCl₂ wasserfrei 0,1, KCl 0,075, NaHCO₃ 0,1 g, destilliertes Wasser 1 l) aufgehängt. Die Schreibhebelvergrößerung war eine 10fache. Die Zeitschreibung verzeichnete Minutenmarken. Sämtliche Kurven (Kurve 3—32) sind in $\frac{1}{3}$ der Originalgröße wiedergegeben.

Wie bei den erwähnten Versuchen am Warmblüterorgan gebrauchte ich als erregbarkeitssteigernde Gifte Physostigmin und Guanidin. Mit ihnen wurden die erregenden Substanzen Azetylcholin, Cholin, Cholinmuskarin, Pilocarpin, Nikotin, Chinin und Baryt kombiniert. Die Gifte wurden im Verhältnis 1:10 oder 1:100 in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Von diesen Vorratslösungen wurden die jeweiligen Verdünnungen mit Ringerlösung hergestellt. Wo nicht

1) H. Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin, Wien 1911, S. 46.

2) P. Schultz, Über den Einfluß der Temperatur auf die Leistungsfähigkeit der längsgestreiften Muskeln der Wirbeltiere. Archiv f. Physiologie 1897, S. 9.

anders bemerkt, war die Reaktion der gebrauchten Lösung gegen Lackmus vollkommen neutral.

Im allgemeinen kam an den Präparaten erst das erregende Gift mehrere Male hintereinander während 5—10—15 Minuten, je nach der Stärke der Wirkung, zur Verwendung, mit dazwischen liegenden Auswaschungen. Dann wurde das Präparat meist 20 Minuten lang in Physostigmin- oder Guanidinlösung verbracht und darauf, ohne Auswaschung, in die erste Gifflösung zurück, welcher inzwischen eine geringe Menge starker Physostigmin- oder Guanidinlösung zugesetzt worden war, zur Erzielung der vorher allein gebrauchten Konzentration.

Bei der in diesen Versuchen vielfach beobachteten Wirkungspotenzierung zweier Gifte handelt es sich vorwiegend um eine Steigerung der chemischen Reizbarkeit glatter Muskeln im Sinne von F. B. Hofmann und seinen Schülern¹⁾ gegenüber einer chemischen Reizung, wobei die Reizbarkeit durch die Höhe der Reizschwelle charakterisiert ist. Inwieweit daneben gleichzeitig die Leistungsfähigkeit der Präparate, gemessen an der Kontraktionshöhe bei maximaler Reizung, verändert war, wurde nicht weiter verfolgt. In dieser und den folgenden Abhandlungen soll an Stelle des Begriffes »Reizbarkeit« der allgemeinere und pharmakologisch gebräuchlichere der »Erregbarkeit«, beibehalten werden.

Versuche.

Azetylcholin.

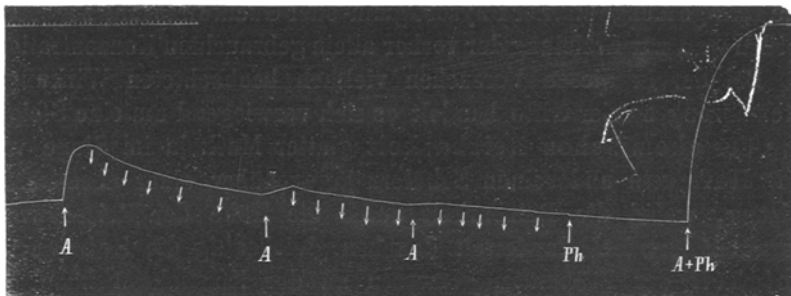
Das Azetylcholin wurde in Form des kristallisierten salzsauren Salzes gebraucht. Die Substanz kann neuerdings von der Firma C. A. F. Kahlbaum, Berlin-Adlershof, bezogen werden.

Während das Azetylcholin für das isolierte Froschherz zu den stärksten »Reizgiften« im Sinne von Straub gehört, die wir kennen, und hier das ihm chemisch nahestehende Cholinmuskarin (Nitroscholin) um das 100—1000fache übertreffen kann, wirkt es an der glatten Muskulatur von Blutegel und Froschmagen nur als relativ schwacher Kontraktionsreiz. Wie eine Vergleichung mit salzsaurem Cholin (s. unten) zeigt, wirkt das Azetylcholin an diesen Objekten kaum stärker als ersteres.

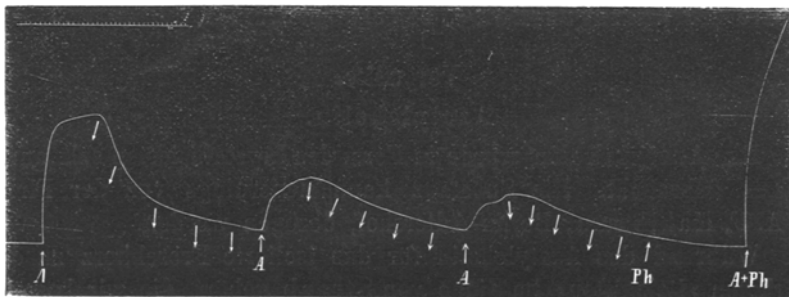
Ein Blutegelpräparat in einer Azetylcholinlösung 1:1 Million aufgehängt, zeigt entweder schwache oder keine Kontraktion. Mäßig

1) F. B. Hofmann, Studien über den Tetanus. III. Pflügers Archiv 103, 296 (1904). — Derselbe, Chemische Reizung und Lähmung markloser Nerven und glatter Muskeln wirbelloser Tiere. Ebenda 132, 82 (1910). — R. Benda, Über den Einfluß des Traubenzuckers usw. Zeitschr. f. Biologie 63, 12 (1913).

wirksam ist im allgemeinen eine Konzentration 1:100 000, wie dies Kurve 3 zeigt. Wäscht man gründlich aus und hängt von neuem in die Lösung ein, so fällt die Wirkung stets schwächer als vorher aus. Dasselbe gilt auch für die Einwirkung stärkerer Lösungen. Kurve 4 zeigt diejenige von Azetylcholin 1:10 000 in mehrmaliger Wiederholung. Maximale Kontraktion des Blutegelpräparates bringen aber selbst Azetylcholinlösungen 1:1000 nicht hervor. Diese schwache



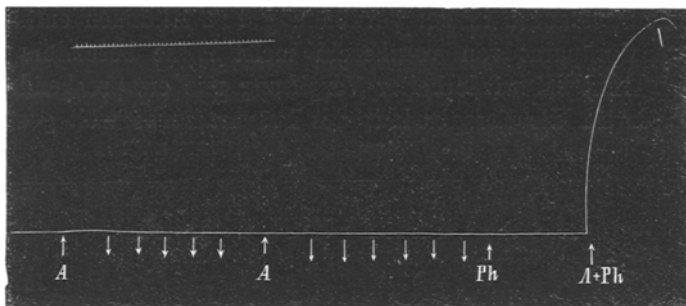
Kurve 3. Blutegel. 3mal Azetylcholin 1:100 000 je 5 Minuten.
Physostigmin 1:10 Millionen 20 Minuten. Mischung 5 Minuten.



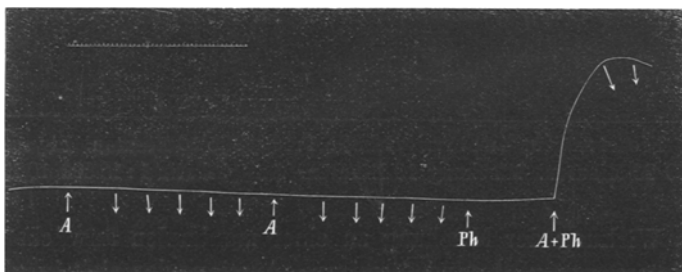
Kurve 4. Blutegel. 3mal Azetylcholin 1:10 000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1:1 Million 20 Minuten. Mischung: Anstiegsdauer 2 Minuten.

Wirkung des Azetylcholins kann durch Zugabe geringer Mengen von Physostigminsulfat oder -salizylat außerordentlich gesteigert werden. Physostigminsulfat bewirkt für sich allein (s. unten) in der Konzentration 1:10 000 manchmal schwachen Tonusanstieg am Blutegelpräparat. 1:100 000 ist fast immer, 1:1 Million stets unwirksam in dieser Richtung. Kurve 3 und 4 zeigen, wie die Wirkung des Azetylcholins durch Physostigmin 1:1 Million und 1:10 Millionen zu einer maximalen wird. Aber selbst eine an sich wirkungslose Konzentration von Azetylcholin kann, wie Kurve 5 zeigt,

durch Physostigminspuren, die in einer Lösung 1:100 Millionen enthalten sind, noch zu einer maximal wirksamen gemacht werden. Immerhin findet man Präparate, welche sich in dieser Mischung nur wenig oder nicht mehr kontrahieren. Bei einer Azetylcholinlösung 1:1 Million, welche gleichzeitig Physostigmin in der Konzentration 1:1000 Millionen (1 Milliarde) enthält, habe ich, bei Vorbehandlung mit der entsprechenden Lösung des letzteren, nur noch minimale



Kurve 5. Blutegel. 2mal Azetylcholin 1:1 Million je 10 Minuten. Physostigmin 1:100 Millionen 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.



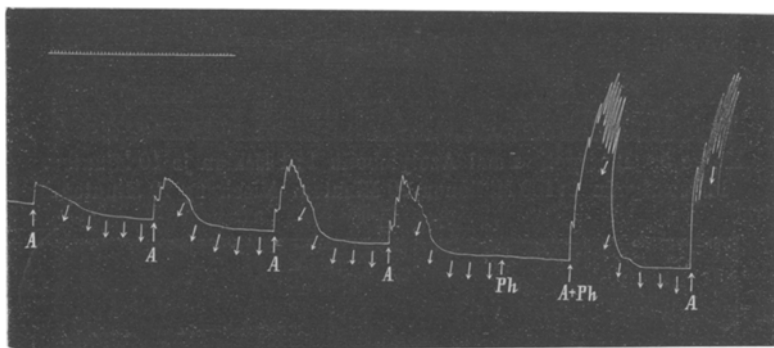
Kurve 6. Blutegel. 2mal Azetylcholin 1:10 Milliarden je 10 Minuten. Physostigmin 1:1 Million 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.

Verstärkung gesehen. Bei einer AzetylcholinKonzentration 1:1 Million darf der Physostigmingehalt der Lösung im allgemeinen nicht unter die Konzentration 1:100 Millionen absinken, wenn die Mischung noch kräftige Wirkung entfalten soll.

Dagegen kann bei Verwendung einer PhysostigminKonzentration von 1:1 Million die Konzentration des Azetylcholins außerordentlich verringert werden, ohne daß die Wirkung der Mischung ausbleibt. Eine AzetylcholinKonzentration 1:10 Milliarden hat in Kombination mit der genannten PhysostigminKonzentration häufig noch kräftige, wenn auch keine maximale Wirkung, wie Kurve 6 zeigt, und erst die

Verdünnung 1:100 Milliarden fand ich stets unwirksam. Es ist bemerkenswert, daß am isolierten Froschherzen die äußerste Verdünnung, welche am empfindlichen Objekt noch Stillstand herbeiführt, gleichfalls 1 zu mehreren Milliarden beträgt!).

Als wesentlich erscheint bei diesen Versuchen, daß das Blutegelpräparat mit Physostigmin vorbehandelt wird, bevor es in die Mischung Azetylcholin-Physostigmin gelangt. Eine Mischung von gleichen Teilen Azetylcholin und Physostigmin je 1:1 Million, die also beide Substanzen in der Verdünnung 1:2 Millionen enthält, hat am Blutegelpräparat von vornherein meist keine besonders starke Wirkung. Erst bei wiederholter Vergiftung und entsprechender Auswaschung wird die Erregbarkeit des Präparates so weit gesteigert,



Kurve 7. Froschmagen. 4mal Azetylcholin 1:10000 je 10 Minuten. Physostigmin 1:100000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten. Azetylcholin 1:10000 10 Minuten.

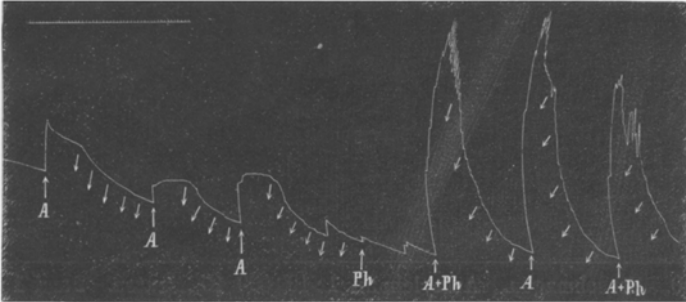
daß die Wirkung der Mischung zu einer maximalen anwächst. Auf diesen interessanten »treppenförmigen« Anstieg, der sich in gleicher Weise auch am Froschmagen beobachten läßt, soll später an anderer Stelle zurückgekommen werden.

Während die Azetylcholinwirkung am Blutegelpräparat durch Physostigmin in solch auffälliger Weise verstärkt wird, wird sie durch Guanidinchlorhydrat in einer Verdünnung 1:5000 nicht deutlich verstärkt, durch stärkere Lösungen (1:1000) sogar abgeschwächt.

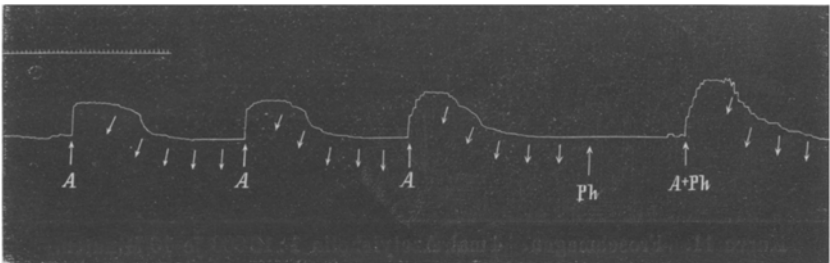
Am Froschmagenstreif erweist sich das Azetylcholin im allgemeinen als ebenso schwach und noch schwächer wirksam wie am Blutegelpräparat. 1:10000—1:100000 bewirken meist mäßige Kontraktion (vgl. Kurven 7, 8 und 9), während vergleichsweise am

1) Vgl. H. Fühner, Die quantitative Bestimmung des Cholins auf biologischem Wege. Biochem. Zeitschr. 77, 412 (1916).

Warmblüterdarm Azetylcholin, und zwar dasselbe hier gebrauchte Präparat, noch in der Verdünnung 1:20 Millionen und darunter kräftigen Tonusanstieg bewirkt. Wie die Kurven 7 und 8 zeigen, kann auch am Froschmagenstück Physostigmin, welches für sich allein (s. unten) hier niemals kontrahierend wirkt, in Konzentrationen von 1:100 000 oder 1:1 Million maximalen Tonusanstieg bewirken. Die Wirkungspotenzierung durch Physostigmin gegenüber dem Azetyl-



Kurve 8. Froschmagen. 3mal Azetylcholin 1:100 000 je 10 Minuten. Physostigmin 1:100 000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten. Azetylcholin 1:100 000 10 Minuten. Mischung 10 Minuten.

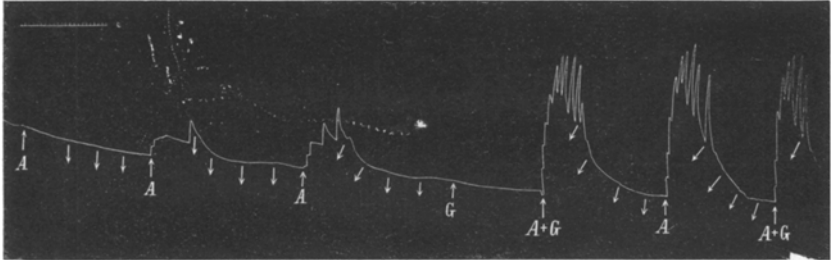


Kurve 9. Froschmagen. 3mal Azetylcholin 1:100 000 je 10 Minuten. Physostigmin 1:100 000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.

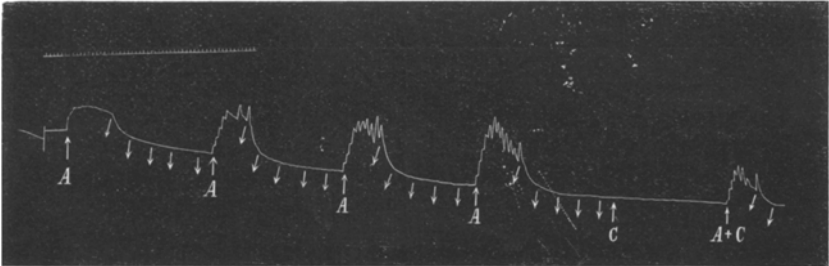
cholin ist indes am Froschmagen durchaus keine solch regelmäßige Erscheinung wie am Blutegel. Kurve 9 zeigt, wie eine ziemlich kräftige Wirkung von Azetylcholin 1:100 000, die bei wiederholter Vergiftung konstant bleibt, durch Physostigmin 1:100 000 nicht gesteigert wird. Erst die zweite Vergiftung mit derselben Mischung wurde etwas wirksamer. Auch das Guanidin besitzt dem Azetylcholin gegenüber am Froschmagenring eine wechselnde Wirkung. Kurve 10 zeigt gute Wirkungspotenzierung durch Guanidin 1:1000. In anderen Fällen fehlt unter sonst gleichen Bedingungen jegliche Wirkungsver-

stärkung. Wirkungsverminderung durch Guanidin wurde hier nicht beobachtet.

Es schien mir nicht unwichtig, am Frostmagen zu prüfen, ob das Colchicin, bei dem ich, wie einleitend bemerkt, am Warmblüterdarm keine erregbarkeitssteigernde Wirkung gegenüber dem Cholinmuskarin feststellen konnte, hier gegenüber dem Azetylcholin sich dem Physostigmin analog verhält. Genau wie am Warmblüter-



Kurve 10. Frostmagen. Azetylcholin 1:100 000 10 Minuten. 2mal 1:10 000 je 10 Minuten. Guanidin 1:1000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten. Azetylcholin 1:10 000 10 Minuten. Mischung 10 Minuten.



Kurve 11. Frostmagen. 4mal Azetylcholin 1:10 000 je 10 Minuten. Colchicin 1:100 000 30 Minuten. Mischung 10 Minuten.

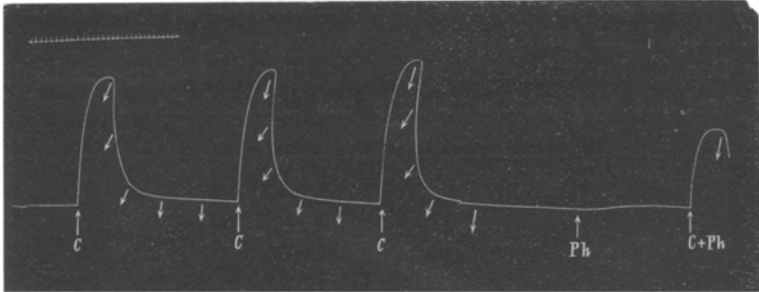
darm läßt sich am Frostmagen lediglich eine hemmende Wirkung auch gegenüber dem Azetylcholin nachweisen, sowohl bei halbstündiger Colchicineinwirkung, wie sie Kurve 11 zeigt, wie bei einer Einwirkung von mehreren Stunden.

Cholin.

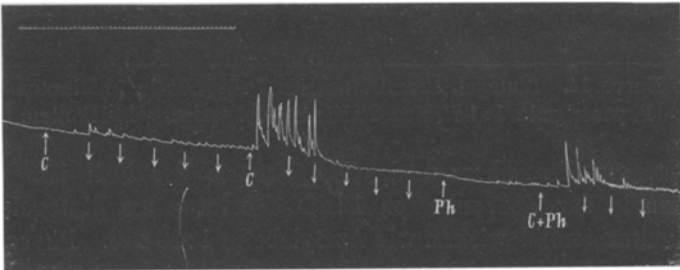
Das Cholin gelangte in Form des kristallisierten salzsauren Salzes (Kahlbaum) zur Verwendung.

Wie erwähnt und wie die Kurve 12 in Vergleichung mit Kurve 4 zeigt, ist die Wirkungsstärke des Cholins am Blutegelpräparat

nur wenig schwächer, als die des Azetylcholins. Das Cholin wäscht sich leicht und rasch wieder aus den Präparaten aus und wirkt, wohl damit im Zusammenhang, bei wiederholter Anwendung gleichstark. Diese verhältnismäßig starke Wirkung des Cholins am Blutegel gegenüber dem Azetylcholin ist recht bemerkenswert. An anderen biologischen Objekten, am meisten ausgeprägt am isolierten Froschherzen, zeigen sich die größten Unterschiede in der Wirkungsstärke.



Kurve 12. Blutegel. 3 mal Cholin 1:10 000 je 5 Minuten.
Physostigmin 1:100 000 20 Minuten. Mischung 5 Minuten



Kurve 13. Froschmagen. 2 mal Cholin 1:10 000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1:100 000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.

Hier ist das Azetylcholin mindestens 1000mal wirksamer als das Cholin. Diese kräftige Wirkung des Cholins am Blutegel wird nun, im Gegensatz zu der des Azetylcholins, niemals verstärkt durch Physostigmin. In einer Konzentration 1:1 Million beeinflusst es die Cholinwirkung so gut wie nicht. Stärkere Konzentrationen, wie 1:100 000, können eine kräftige Cholinwirkung herabmindern (Kurve 12).

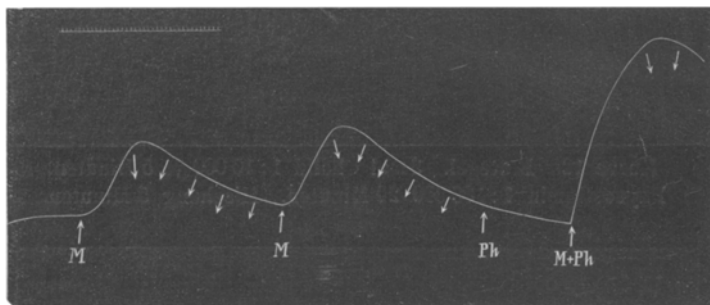
Am Froschmagenring ist das Cholin meist weniger wirksam als am Blutegelpräparat. Lösungen 1:10 000 haben häufig keine Wirkung, und selbst Verdünnungen 1:1000 können sich an Präparaten,

welche auf andere Gifte gut ansprechen, als unwirksam erweisen. Beobachtet man eine Wirkung am Frostmagen, wie in Kurve 13, so wird dieselbe durch Physostigmin ebensowenig gesteigert wie am Blutegel, sondern eher abgeschwächt.

Cholinmuskarin.

Salzsaures Cholinmuskarin, das nach dem bekannten Verfahren von Schmiedeberg und Harnack hergestellt wurde, ist nach den Angaben von Dale¹⁾ ein Nitrosocholin und wie das Azetylcholin ein Ester des Cholins.

Das Cholinmuskarin erweist sich im allgemeinen am Blutegelpräparat als viel wirksamer ~~wie~~ das Azetylcholin, während, wie



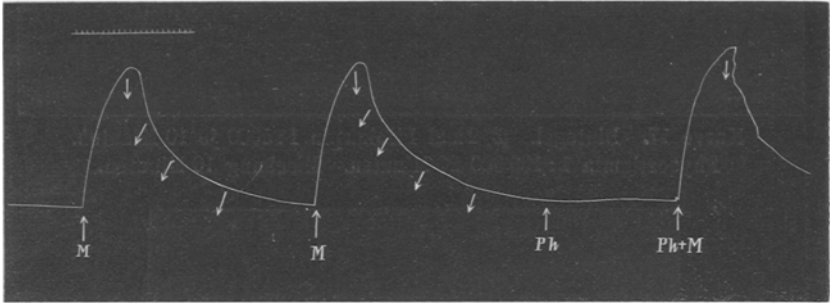
Kurve 14. Blutegel. 2mal Muskarin 1:400 000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1:1 Million 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.

erwähnt, am Froshherzen das Umgekehrte der Fall ist. Cholinmuskarin in der Konzentration 1:400 000 kann am Blutegel ebenso stark kontrahierend wirken wie Azetylcholin 1:10 000. Physostigmin kann diese Muskarinwirkung mäßig verstärken, doch meist ist dies nicht der Fall. Kurve 14 zeigt eine Verstärkung der Muskarinwirkung 1:400 000 durch Physostigmin in der Konzentration 1:1 Million. In Kurve 15 ist durch die Physostigminkonzentration 1:100 000 keine Verstärkung von Muskarin 1:100 000 zu sehen. Durch Guanidin in der Verdünnung 1:1000—1:4000 wurde entweder keine Beeinflussung oder Verminderung der Muskarinwirkung beobachtet.

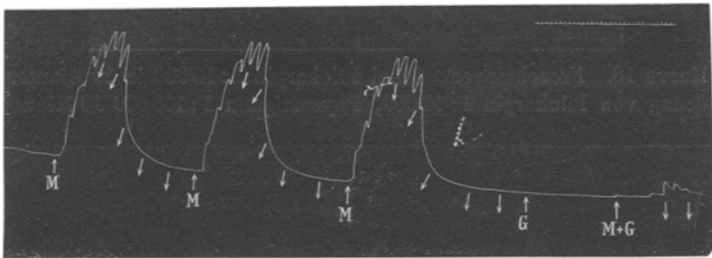
Auch am Frostmagenpräparat ist das Cholinmuskarin wirksamer als das Azetylcholin. Eine Wirkungsverstärkung durch Physostigmin in den Verdünnungen 1:1 Million und 1:100 000 wurde in

1) H. H. Dale, The Action of Certain Esters and Ethers of Choline, and their Relation to Muscarine. *Journal of Pharmacology and Exp. Therap.* 6, 147 (1914/15).

verschiedenen Versuchen nicht beobachtet, sondern nur Verminderung der kräftigen Muskarinwirkung. Dasselbe gilt für das Guanidin, welches noch ausgeprägter wie am Blutegel am Froschmagen ein antagonistisches Verhalten zeigt. Es wurden die Verdünnungen 1:1000—1:8000 in dieser Richtung geprüft. Kurve 16 zeigt eine entsprechende Wirkung.



Kurve 15. Blutegel. 2 mal Muskarin 1:100 000 je 5 Minuten.
Physostigmin 1:100 000 20 Minuten. Mischung 5 Minuten.



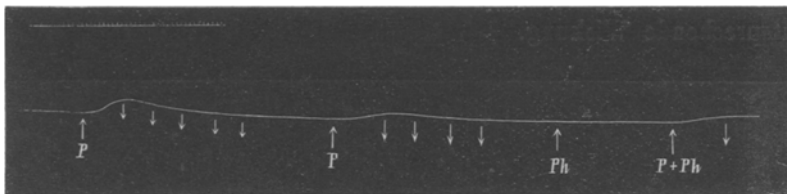
Kurve 16. Froschmagen. 3 mal Muskarin 1:100 000 je 10 Minuten.
Guanidin 1:1000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.

Pilokarpin.

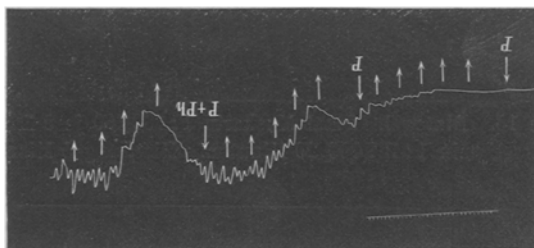
Das salzsaure Pilokarpin (Merck) wirkt an manchen biologischen Objekten etwa so stark wie das Cholinmuskarin. Am Blutegelpräparat wirkt es außerordentlich viel schwächer. Konzentrationen des Pilokarpins 1:10000 haben meist keine, solche von 1:5000 nur sehr schwache Wirkung. Eine Verstärkung dieser Wirkung durch Physostigmin, das in Verdünnungen 1:10000 bis 1:10 Millionen geprüft wurde, konnte ich nicht beobachten (Kurve 17).

Am Froschmagenring wechselt die Pilokarpinwirkung sehr in ihrer Stärke. Stellt man von demselben Magen mehrere Präparate her, so kann sich das Pilokarpin ganz verschieden an ihnen verhalten.

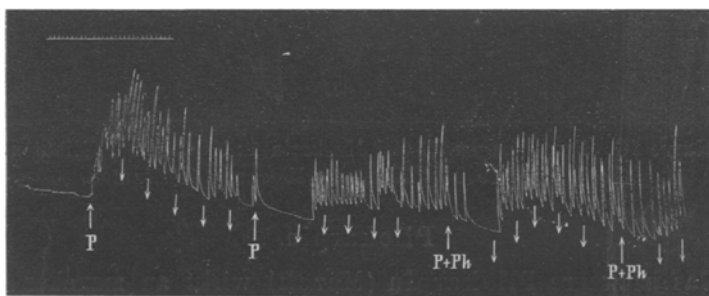
Dabei kann eine Lösung 1:10000, die häufig gar nicht mehr kontrahierend wirkt, ausnahmsweise stärker wirken als eine solche 1:5000 oder 1:2000. Das Zusammenwirken von Pilocarpin und Physostigmin läßt sich nur selten einwandfrei verfolgen, weil beim



Kurve 17. Blutegel. (3) 2mal Pilocarpin 1:5000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1:100 000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.



Kurve 18. Froschmagen. 2mal Pilocarpin 1:10 000 je 10 Minuten.
Lösung von Pilocarpin 1:10 000, Physostigmin 1:100 000 10 Minuten.



Kurve 19. Froschmagen. 2mal Pilocarpin 1:20 000 je 10 Minuten.
Lösung von Pilocarpin 1:20 000, Physostigmin 1:1 Million 2mal je 10 Minuten.

Versuch, Pilocarpinlösungen obiger Konzentrationen aus den Präparaten auszuwaschen, oft stundenlang dauernde Erregung und rhythmische Tätigkeit des Präparates auftritt. Es handelt sich dabei um eine »Entgiftungserregung«¹⁾, eine Erscheinung, die wohl jedem

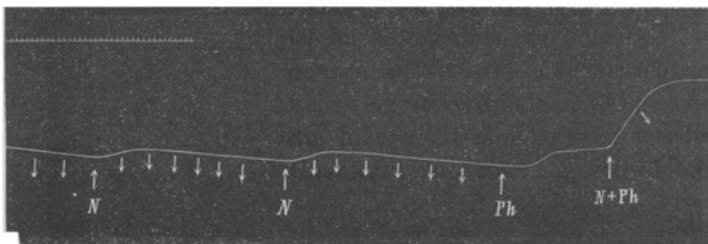
1) Vgl. hierzu: A. Kuyser und I. A. Wijsenbeek, Über Entgiftungserregung und Entgiftungshemmung. Arch. f. d. ges. Physiol. 154, 16 (1913).

bekannt ist, der schon an isolierten Organen gearbeitet hat, die mir aber noch nie in solch auffälliger Weise entgegentrat wie hier. Besonders bemerkenswert erscheint bei dieser Pilocarpinwirkung, daß sich, wie Kurve 18 zeigt, eine stark erregende Wirkung überhaupt erst beim Auswaschen zeigt, während die Pilocarpinlösung selbst nicht oder nur schwach erregend wirkt. Unter solchen Bedingungen läßt sich eine etwaige Wirkungspotenzierung durch Physostigmin nicht feststellen. Dies kann nur dann geschehen, wenn man ausnahmsweise Präparate findet, welche sich beim Auswaschen wieder dehnen. An diesen läßt sich eine Wirkungsverstärkung weder durch Physostigmin (Kurve 19) noch durch Guanidin beobachten.

Nikotin.

Zur Verwendung gelangte das weinsaure Salz des Nikotins (Merck).

Wie ich¹⁾ früher gezeigt habe, sind Nikotinslösungen am Blutegelpräparat sehr stark wirksam. Sie wirken in größerer Verdünnung nur allmählich kontrahierend und waschen sich schlecht aus. Um den Synergismus Nikotin-Physostigmin zu untersuchen, vergiftet man am besten mit schwachen Lösungen kurze Zeit. Einen derartigen Versuch zeigt Kurve 20. Dreimalige Vergiftung mit



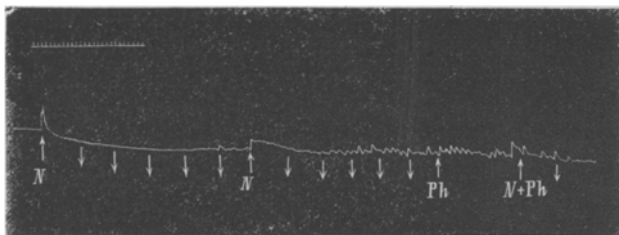
Kurve 20. Blutegel. (3) 2 mal Nikotin 1 : 200 000 je 5 Minuten.
Physostigmin 1 : 100 000 20 Minuten. Mischung 5 Minuten.

Nikotin 1 : 200 000 ergab gleichförmige schwache Kontraktion. Physostigmin 1 : 100 000 bewirkte nach einiger Zeit gleichfalls eine schwache Kontraktion, wahrscheinlich, weil das Nikotin noch nicht völlig ausgewaschen war. Die Mischung von Nikotin und Physostigmin ergab mäßige Wirkungspotenzierung.

Am Froschmagenring, der auf Nikotin verhältnismäßig wenig anspricht, wurde nach Vergiftung mit den Konzentrationen 1 : 10 000

1) H. Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. Berlin, Wien 1911, S. 48.

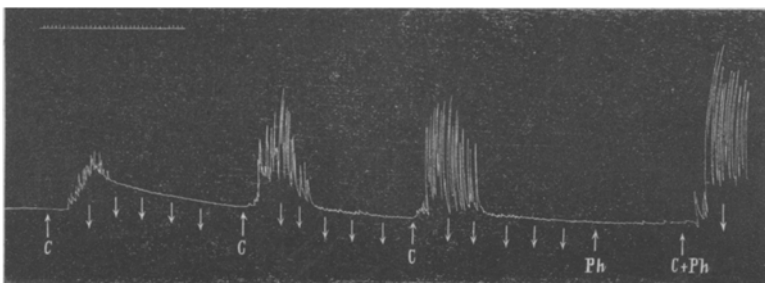
und 1 : 100000 durch Physostigmin 1 : 100000 und 1 : 1 Million keine deutliche Beeinflussung der Wirkung gesehen (Kurve 21).



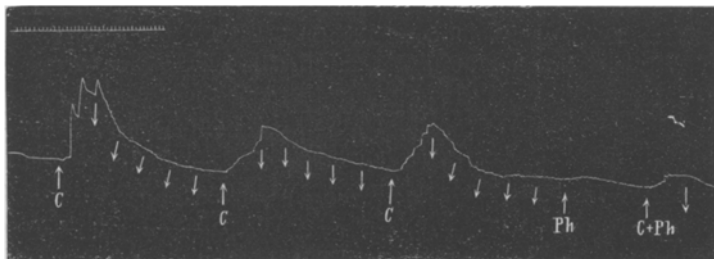
Kurve 21. Froschmagen. 2 mal Nikotin 1 : 10 000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1 : 100 000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.

Chinin.

Von den Chininsalzen wurde die salzsaure Verbindung zu den Versuchen gebraucht.



Kurve 22. Blutegel. 3 mal Chinin 1 : 5000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1 : 10 Millionen 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.



Kurve 23. Froschmagen. 3 mal Chinin 1 : 5000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1 : 1 Million 20 Minuten. Mischung 10 Minuten.

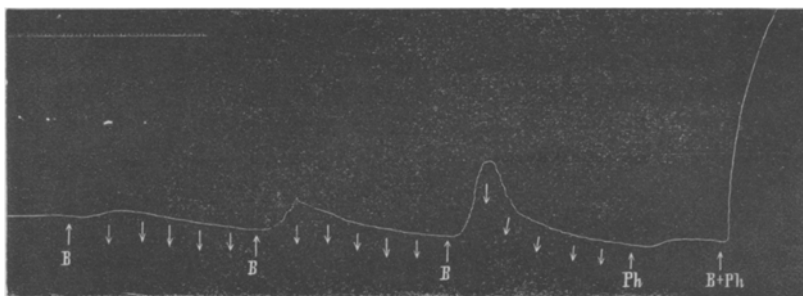
Die erregende Wirkung des Chinins, welche am besten in der Konzentration 1 : 5000 am Blutegelpräparat in wiederholter An-

wendung geprüft wird, findet durch Physostigmin in starker (1 : 50 000) und schwacher (bis 1 : 10 Millionen) Lösung ausgesprochene Potenzierung (Kurve 22). Auch Guanidin bewirkt in den Konzentrationen 1 : 2000—1 : 10 000 Wirkungsverstärkung des Chinins.

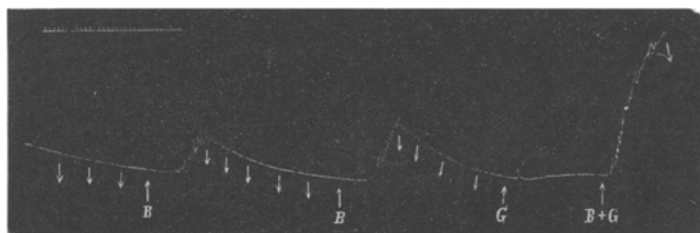
Am Froschmagenring konnte dagegen weder durch Physostigmin (Kurve 23) noch durch Guanidin deutliche Wirkungspotenzierung des Chinins beobachtet werden, sondern die Wirkung war entweder eine negative oder häufiger — wie in der wiedergegebenen Kurve — eine antagonistische.

Baryt.

Bariumchlorid erweist sich an der glatten Muskulatur des Blutegels als relativ stark wirksam. Eine Konzentration 1 : 10 000 kann an empfindlichen Präparaten maximale Kontraktion herbeiführen. 1 : 40 000 ist bei erstmaliger Vergiftung, wie Kurve 24 zeigt, oft wenig



Kurve 24. Blutegel. 3mal Baryt 1 : 40 000 je 10 Minuten.
Physostigmin 1 : 1 Million 20 Minuten. Mischung: Anstiegsdauer 9 Minuten.

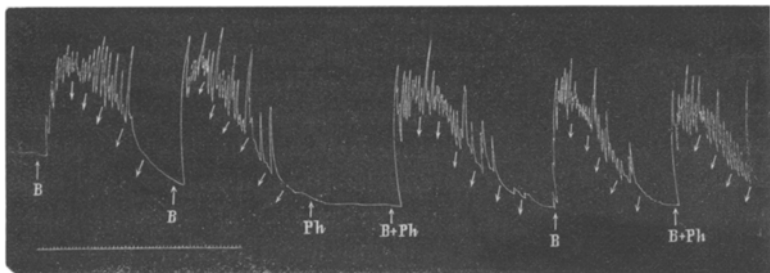


Kurve 25. Blutegel. (3) 2mal Baryt 1 : 20 000 je 12 Minuten.
Guanidin 1 : 5000 20 Minuten. Mischung 12 Minuten.

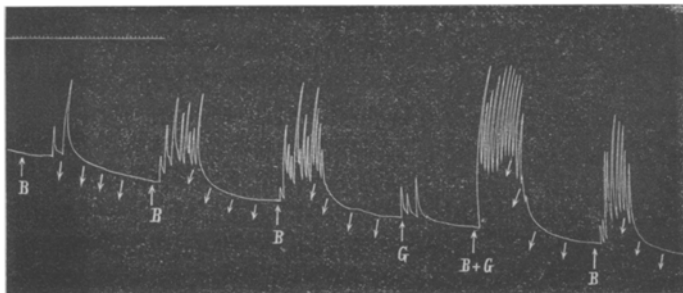
wirksam. Bei wiederholter Vergiftung beobachtet man oft treppenförmiges Ansteigen. Physostigmin in den Konzentrationen 1 : 100 000 oder 1 : 1 Million bewirkt mit Baryt 1 : 40 000 zusammen maximale Kontraktion des Präparates (Kurve 24). Auch Guanidin in den Kon-

zentrationen 1:1000—1:5000 bedingt kräftige Wirkungssteigerung (Kurve 25). Am Blutegelpräparat wurde neben Guanidin auch die Wirkung von Methylguanidin (in Form des salzsauren Salzes) in seiner Beeinflussung der Barytwirkung geprüft. Es wirkt dem Guanidin ähnlich verstärkend.

Am Froschmagenring wirkt Baryt schwächer als am Blutegelpräparat. Häufig ist die Verdünnung 1:4000 kaum und, wie Kurve 26 zeigt, erst 1:2000 gut wirksam. Eine Wirkungsverstärkung



Kurve 26. Froschmagen. 2 mal Baryt 1:2000 je 10 Minuten. Physostigmin 1:1 Million 20 Minuten. Mischung 10 Minuten. Baryt 1:2000 10 Minuten. Mischung 10 Minuten.



Kurve 27. Froschmagen. 3 mal Baryt 1:4000 je 10 Minuten. Guanidin 1:2000 20 Minuten. Mischung 10 Minuten. Baryt 1:4000 10 Minuten.

von Barytlösung durch Physostigminlösung verschiedener Konzentration (1:100000 und 1:1 Million) habe ich nicht beobachtet (Kurve 26). Durch Guanidinlösung 1:1000—1:4000 sah ich meist keine, ausnahmsweise mäßige Verstärkung der Barytwirkung (Kurve 27), neben häufigerer Wirkungsverminderung in anderen Fällen.

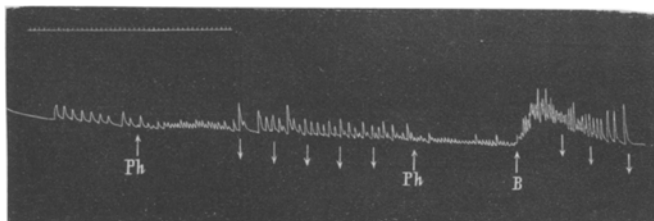
Physostigmin.

Zu den Versuchen diente Physostigminsulfat (Merck), dessen Lösung 1:100 in physiologischer Kochsalzlösung gegen Lackmus

schwach sauer reagiert. Kontrollversuche wurden mit Physostigminsalizylat (Merck) ausgeführt, dessen 1%ige Lösung gleichfalls saure Reaktion zeigt. Die stärksten, zu den Versuchen gebrauchten Lösungen im Verhältnis 1:1000 mit Ringerlösung hergestellt, reagierten vollkommen neutral.

Gegenüber der starken Wirkung des Physostigmins am Warmblüterdarm, welcher sich in Verdünnungen 1:1 Million und darunter kräftig kontrahiert, ist die schwache Wirkung des Giftes am Froschmagen- und Blutegelpräparat sehr auffallend.

Am Froschmagenring wurde in Konzentrationen 1:1 Million bis zur Stärke von 1:1000 niemals Tonusanstieg beobachtet. Am untätigen Präparat ist überhaupt keine Wirkung zu sehen. Am spontan tätigen Stück bewirkten starke Lösungen Abnahme der Kontraktionshöhe, wobei gleichzeitig, wie Kurve 28 zeigt, Beschleunigung der



Kurve 28. Froschmagen. 2mal Physostigmin 1:2000 je 20 Minuten.
Baryt 1:2000 10 Minuten.

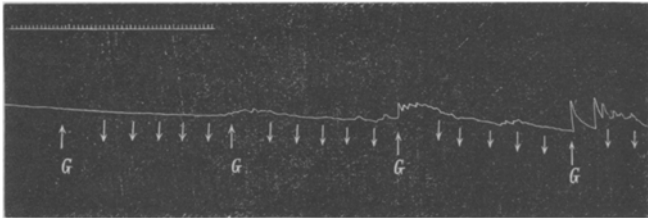
rhythmischen Bewegungen eintrat. Noch auffälliger ist aber am Froschmagen das fast völlige Fehlen einer erregbarkeitssteigernden Wirkung gegenüber der Wirkung der anderen geprüften Substanzen. Nur allein beim Zusammenwirken mit Azetylcholin wurde eine kräftige Wirkungspotenzierung beobachtet. Die kontrahierende Wirkung der anderen Gifte wird durch Physostigmin entweder nicht oder in hemmendem Sinne beeinflusst.

Bedeutend stärker äußert sich eine Wirkung des Physostigmins am Blutegelpräparat. Einmal in der Richtung, daß hier starke Lösungen (1:5000—1:10000) Tonusanstieg bewirken, dann aber vor allem darin, daß die schwächeren Lösungen, welche selbst nicht mehr kontrahierend wirken, die kontrahierende Wirkung fast aller anderen Gifte in hohem Grade fördert. Über diese erregbarkeitssteigernde Wirkung des Physostigmins und ihren Angriffsort am Blutegel soll später in einer anderen Arbeit ausführlicher berichtet werden.

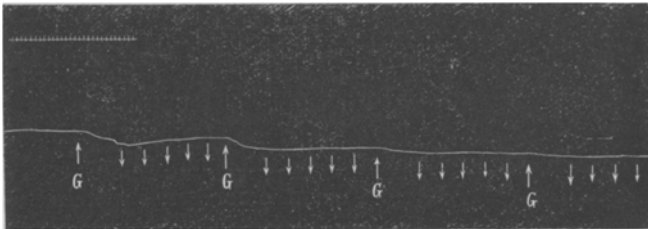
Guanidin.

Guanidin gelangte in Form des salzsauren Salzes zur Verwendung, und zwar in Präparaten von Kahlbaum und von Merck. Das Mercks'sche Präparat besitzt den Vorzug klarer Löslichkeit im Verhältnis 1:10 in Wasser. Die starken Lösungen können saure Reaktion aufweisen. Die gebrauchten Verdünnungen mit Ringerlösung reagierten neutral. Die Wirkung beider Präparate war dieselbe.

Guanidin verhält sich am Warmblüterdarm ähnlich wie Physostigmin: Starke Lösungen bewirken Tonusanstieg, schwächere können die Wirkung erregender Gifte verstärken. Letztere Wirkung zeigt sich in den Kurven 1 und 2.



Kurve 29. Froschmagen. 4 mal Guanidin 1:1000 je 10 Minuten.



Kurve 30. Blutegel. 4 mal Guanidin 1:1000 je 10 Minuten.

Am Froschmagen ist Guanidin allein verhältnismäßig stärker als Physostigmin. Es wirkt in Verdünnung 1:500 und 1:1000 schwach kontrahierend. Daneben ruft es am nicht spontan tätigen Organstück rhythmische Kontraktionen hervor, und zwar namentlich bei wiederholter Anwendung (Kurve 29). Seine erregbarkeitssteigernde Wirkung zeigt sich am Froschmagen nur gegenüber Azetylcholin und Baryt, doch gegenüber beiden Giften nicht regelmäßig.

Am Blutegelpräparat bewirken Guanidinlösungen niemals Tonusanstieg, sondern in starken Konzentrationen (1:200—1:1000) leichten Tonusabfall (Kurve 30). Eine erregbarkeitssteigernde Wirkung des Guanidins wurde nur gegenüber Baryt und Chinin gefunden.

Gegenüber Azetylcholin ist eine solche kaum angedeutet, vielmehr zeigt sich viel häufiger eine antagonistische Wirkung.

Methylguanidin. Synthetisches salzsaures Methylguanidin gelangte in reiner Form zur Verwendung. Es wurde lediglich gebraucht, um festzustellen, ob es die Wirkung des Baryts am Blutegel in gleicher Weise potenziert wie das Guanidin. Dies ist in der Tat der Fall.

Besprechung der Versuche.

Die auffallendste Beobachtung in den beschriebenen Versuchen ist die hochgradige Wirkungspotenzierung von Azetylcholin und Physostigmin. Auf Physostigmin bezogen, welches in der Verdünnung 1:10 000 allein Kontraktion am zentrenfreien Blutegelpräparat hervorruft, während bei Gegenwart von an sich schwach wirkenden Azetylcholinmengen noch die Verdünnung 1:100 Millionen mindestens ebenso starke Wirkung besitzt, ist die Wirkungsverstärkung eine hunderttausend- bis millionenfache. Gegenüber dem Azetylcholin erscheint sie noch weitergehend: Eine Verdünnung 1:10 Milliarden kann bei Gegenwart von an sich nicht kontrahierend wirkenden Physostigminmengen um mehr als das Millionenfache verstärkt werden.

Bei der beobachteten Wirkungspotenzierung von Azetylcholin-Physostigmin ist von vornherein nicht ersichtlich, ob dabei nur das Physostigmin die erregende Wirkung des Azetylcholins steigert, oder ob auch das Azetylcholin die erregende oder erregbarkeitssteigernde Wirkung des Physostigmins potenziert. Eine erregbarkeitssteigernde Wirkung des Azetylcholins ist bisher an anderen Objekten nicht beobachtet worden, während eine solche beim Physostigmin längst allgemein angenommen wird. Ich habe in besonderen Versuchen festgestellt, daß das Azetylcholin am Blutegel die erregende Wirkung des Baryts nicht steigert, sich also anders verhält wie Physostigmin und Guanidin. Es dürfte sich darum bei dem potenzierten Synergismus Azetylcholin-Physostigmin lediglich um eine Steigerung der erregenden Wirkung des Azetylcholins durch die erregbarkeitssteigernde des Physostigmins handeln.

Diese außerordentliche Wirkungspotenzierung, welche sich in geringerem Grade auch am zentrenhaltigen Froschmagenring beobachten läßt, scheint von vornherein einer einfachen chemischen Erklärung zugänglich, wenn man berücksichtigt, daß das Azetylcholin in wässriger Lösung leicht zersetzlich ist, wobei es in seine Komponenten Cholin und Essigsäure zerfällt. Man kann sich vorstellen, daß das Azetylcholin an Blutegel und Froschmagen aus dem Grunde verhält-

nismäßig wenig wirkt, weil es am Orte seiner Wirkung (motorisches Nervenende oder Muskelzelle) verseift wird, so daß seine Wirkung bis zu der des Cholins herabgedrückt erscheint. Physostigmin verhindert vielleicht diese Zersetzung, wodurch das Azetylcholin zu einer Wirkungsstärke emporgehoben wird, wie sie am isolierten Warmblüterdarm und am Froschherzen normal sich zeigt.

Auf eine Verseifung des Azetylcholins ist sicherlich seine geringe Wirksamkeit am Warmblüter bei subkutaner Injektion zurückzuführen, verglichen mit seiner Wirkung bei intravenöser Applikation. Es steht in dieser Zersetzlichkeit dem Adrenalin nahe und ist jedenfalls im Tierkörper viel labiler wie das als Ester entsprechend konstituierte Cholinmuskarin (Nitrosocholin) und das chemisch gleichfalls empfindliche Pilocarpin. Bei der Verwendung am isolierten Organ des Kaltblüters sollte man jedoch meinen, daß diese Zersetzlichkeit kaum maßgebend sein kann: Die Verseifung des Azetylcholins erfolgt nach den Literaturangaben am leichtesten in alkalischer Lösung. Dabei wirkt es aber kräftig am Warmblüterdarm, welcher in stark alkalisch reagierender Tyrodelösung arbeitet, und zwar bei einer Temperatur von 39° . Seine Zersetzungsgeschwindigkeit in der fast neutral reagierenden Ringerlösung bei 17° ist sicherlich eine viel geringere. In besonderen Versuchen erwies sich der Ester auch in alkalischer Lösung als relativ beständig:

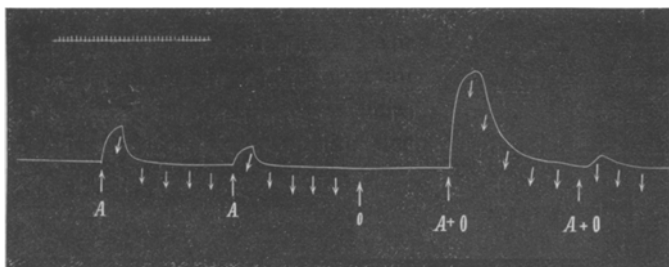
Wurde eine Azetylcholinlösung 1:100000 mit so viel Natriumkarbonat versetzt, daß sie gegen Lackmus kräftig alkalisch reagierte, und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, so hatte dieselbe beim Versetzen mit Physostigmin immer noch fast maximale Wirkung am Blutegelpräparat.

Dieser und ähnliche Versuche zeigten zugleich, daß die Mischung Azetylcholin-Physostigmin auch bei deutlich alkalischer Lösung gut wirksam ist, daß andererseits Alkalizusatz keine Verstärkung der Azetylcholinwirkung bedingt, während solche Verstärkungen der Wirkung unter dieser Bedingung bei manchen Alkaloiden bekannt sind.

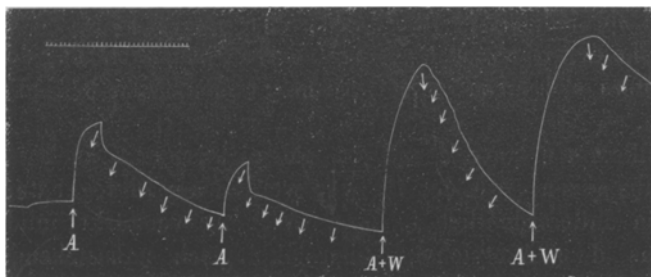
Sehr bemerkenswert ist dagegen, daß die Wirkung des Azetylcholins durch Säurezusatz verstärkt wird. Milchsäure habe ich in dieser Richtung nicht geprüft. Essigsäure in verschiedenen Mengen erwies sich als wenig fördernd für die Azetylcholinwirkung. Wirksamer war meist Oxalsäure, und die stärkste Wirkung sah ich bei der Weinsäure. Kurve 31 zeigt eine starke Wirkung der Oxalsäure in der Verdünnung 1:4000, Kurve 32 diejenige von Weinsäure derselben Verdünnung. Beide Lösungen reagierten kräftig sauer.

Schwächere Lösungen, welche aber immer noch sauer gegen Lackmus reagierten, hatten geringere Wirkung.

Die verhältnismäßig schwache Wirkung der Essigsäure in diesen Versuchen und die stärkere der kalkfallenden Säuren ließen daran denken, daß vielleicht eine durch Kalkentziehung bedingte Erregbarkeitssteigerung, wie sie Chiari und Fröhlich¹⁾ in ihren Versuchen als entscheidend ansehen, auch hier die Azetylcholinwirkung verstärkt. Dagegen spricht, daß die weniger stark kalkfallende Weinsäure



Kurve 31. Blutegel. 2mal Azetylcholin 1:100 000 je 5 Minuten.
Oxalsäure 1:4000 20 Minuten. Mischung 2mal je 5 Minuten.



Kurve 32. Blutegel. 2mal Azetylcholin 1:100 000 je 5 Minuten.
2mal Lösung von Azetylcholin 1:100 000, Weinsäure 1:4000 je 5 Minuten.

stärker fördernd wirkt als die Oxalsäure; dagegen spricht ferner, daß in Versuchen mit Natriumoxalat, das übrigens an sich am Blutegelpräparat erregend wirkt, in stark den Kalk der Ringerlösung ausfallender Menge keine entsprechende Verstärkung der Azetylcholinwirkung gesehen wurde. Maßgebend scheint bei der Verstär-

1) R. Chiari und A. Fröhlich, Erregbarkeitsänderung des vegetativen Nervensystems durch Kalkentziehung. Dieses Archiv 64, 215 (1911). — Vgl. ferner H. Januschke, Über die Aufhebung der Oxalsäurevergiftung am Frosch und das Wesen der Oxalsäurewirkung. Ebenda 61, 363 (1909). — O. Gros, Über das Wesen der Oxalsäurewirkung auf das Froschherz. Ebenda 71, 395 (1913).

kungswirkung gegenüber dem Azetylcholin das Vorhandensein freier Säure. Diese Beobachtung einer Wirkungsverstärkung durch freie Säure bei einem namentlich in alkalischem Medium labilen Produkte, wie es das Azetylcholin darstellt, erinnert an jene analoge Beobachtung von Kretschmer¹⁾ beim Adrenalin. Vielleicht läßt sich in ähnlicher Weise durch Säure auch am Warmblüter die Wirkung des Azetylcholins erhöhen.

Im Hinblick auf diese Beeinflussung des Azetylcholins durch Säure ist es von besonderem Interesse, daß die Ausgangslösungen des Physostigmins saure Reaktion besitzen. Diese zeigt sich aber nur in der niemals direkt gebrauchten 1 % igen Lösung. Die Lösung 1 : 1000 in Ringerlösung reagiert schon durchaus neutral. Für die großen Verdünnungen, welche beim Physostigmin noch synergistisch gegenüber dem Azetylcholin wirken, ist eine direkte Säurewirkung absolut ausgeschlossen. Immerhin könnten H-Ionen bei der Physostigminwirkung doch insofern eine Rolle spielen, als unter der erregbarkeitssteigernden Wirkung des Giftes, analog der Wirkung des Strychnins im Zentralnervensystem (Langendorff, Winterstein²⁾), vielleicht in der Muskulatur Säure produziert wird, die dann imstande wäre, eine Zersetzung des Azetylcholins am Orte der Wirkung zu verhindern. Für den speziellen Fall des Synergismus Azetylcholin-Physostigmin würde eine derartige, auf eine Verhinderung der Zersetzung des labilen Cholinesters sich gründende Erklärung am meisten befriedigend erscheinen.

Vollkommen ausreichend ist sie nicht, denn auch unzersetzliche Substanzen, wie der Baryt, werden am Blutegel durch Physostigmin außerordentlich in ihrer Wirkung verstärkt, andererseits wird das dem Azetylcholin pharmakologisch nahestehende Pilocarpin, dessen Wirkung am Blutegel verhältnismäßig ebenso schwach ist wie die des Azetylcholins, durch Physostigmin keineswegs fördernd beeinflußt. Angesichts dieser Tatsachen erscheint das Zusammenwirken von Azetylcholin und Physostigmin doch als ein spezifischer potenziertes Synergismus, der sich am zentrenfreien Blutegelpräparat in besonders hohem Maße ausgeprägt findet.

Läßt sich der spezielle Fall des Azetylcholins im Zusammenhang mit seiner Zersetzlichkeit erklären, so müssen für die Wirkungspotenzierung der anderen Gifte, namentlich des Baryts, der übrigens

1) W. Kretschmer, Die Beeinflussung der Adrenalinwirkung durch Säure. Dieses Archiv 57, 438 (1907).

2) H. Winterstein, Beiträge zur Kenntnis der Narkose. III. Narkose und Erstickung. Biochem. Zeitschr. 70, 130 (1915).

in seiner Wirkung durch Säure (Weinsäure, Essigsäure) nicht verstärkt wird, doch andere Faktoren maßgebend sein. Den Antagonismus Atropin-Muskarin konnte Straub¹⁾ durch den Nachweis verständlich machen, daß das Atropin die Geschwindigkeit des Eindringens von Muskarin verlangsamt. Vielleicht kommt für das entgegengesetzt wirkende Physostigmin der umgekehrte Mechanismus in Frage, daß es die Zellpermeabilität für die anderen Gifte erhöht, eine Wirkung, welche dann für alle durch Physostigmin verstärkten Gifte, mit Einschluß des Azetylcholins, von ausschlaggebender Bedeutung sein könnte. Die Richtigkeit dieser Annahme ließe sich wohl auch hier analytisch-quantitativ erhärten, wie Straub dies beim Atropin-Muskarin ausführen konnte.

Ich habe einleitend erwähnt, daß ich eine regelmäßige Wirkungspotenzierung bei Versuchen an Warmblüterorganen nicht beobachten konnte. Ähnliches gilt auch für einen Teil der Versuche hier: Während am Blutegelpräparat mit größter Regelmäßigkeit der potenzierte Synergismus Azetylcholin-Physostigmin erhalten wird, ist dies nicht der Fall beim Froschmagenring. Die Wirkungsverstärkung kann hier, wie Kurve 8 zeigt, eine sehr bedeutende sein, sie kann aber auch, bei Verwendung gleichstarker Lösungen, vollkommen fehlen, wie aus Kurve 9 zu ersehen ist. Dabei handelt es sich nicht allein um individuelle Schwankungen von Tier zu Tier, wie sie z. B. für das Muskarin schon lange bekannt sind, und zwar nicht nur für das ganze Tier, sondern auch für das isolierte Herz, eine Erscheinung, die ich²⁾ für das isolierte Herz des Frosches neuerdings auch gegenüber dem Azetylcholin beobachtet habe; im vorliegenden Falle zeigen sich sogar nicht unbeträchtliche Schwankungen bei Verwendung verschiedener Stücke von demselben Magen. Wenn irgendwo die Möglichkeit besteht, diese sich an isolierten Organen ergebenden Unterschiede in ihrer Empfindlichkeit aufzuklären, so ist sie hier vorhanden.

In Versuchen, die Ursache dieses Verhaltens festzustellen, ergab sich, daß es für das Zustandekommen der Wirkungspotenzierung gleichgültig ist, ob Sommer- oder Winterfrösche gebraucht, ob die Tiere vor den Versuchen warm gehalten oder aus kaltem Raum entnommen wurden. Es war ohne große Bedeutung, ob die Tiere frisch gefangen oder lange, selbst über ein Jahr, ohne Fütterung im La-

1) W. Straub, Zur chemischen Kinetik der Muskarinwirkung und des Antagonismus Muskarin-Atropin. Arch. f. d. ges. Physiol. 119, 127 (1907).

2) H. Fühner, Die quantitative Bestimmung des Cholins. Biochem. Zeitschr. 77, 412 (1916).

boratorium gehalten wurden. Auch war nicht maßgebend, ob die Frösche vor dem Versuch gefüttert wurden oder nicht, ob das Magenstück spontane Kontraktionen ausführte oder sich ruhig verhielt. Belanglos erschien auch, ob die Azetylcholinlösung stark und die Physostigminlösung schwach war oder umgekehrt, oder ob beide Lösungen gleiche Konzentration aufwiesen. Belanglos war ferner, ob das Azetylcholin erst nur ein- und zweimal oder vier- und fünfmal vor der Anwendung des Physostigmins gegeben wurde. Nur ein Faktor konnte aufgefunden werden, dem sicherlich wenigstens eine gewisse Bedeutung zukommt und der sich aus den wiedergegebenen Kurven gut erkennen und in seiner Bedeutung ermessen läßt, das ist der Dehnungszustand des Magenrings. Alle Versuche wurden mit derselben schwachen Belastung des Schreibhebels ausgeführt¹⁾. Das Verhalten der verschiedenen Präparate, die zum Versuche kamen, zeigte aber beträchtliche Unterschiede: Im Versuch, welcher in Kurve 9 wiedergegeben ist, war von vornherein an dem Präparat gar keine Tendenz zur Erschlaffung bemerkbar, keine Dehnungstendenz unter die ursprüngliche Ruhelage des Präparates. Das Präparat kehrte nach jeder Vergiftung mit Azetylcholin auf die anfängliche Länge zurück. Anders bei den Versuchen der Kurven 7 und 8: Während bei Versuch Kurve 7, wie meist bei wiederholter Vergiftung unter der angewandten Belastung des Schreibhebels, ein leichtes Absinken unter die Nulllinie der Kurve verzeichnet wird, ist an dem Magenring der Kurve 8 schon vor der Vergiftung mit Azetylcholin eine Tendenz zur Dehnung vorhanden, und während der drei Vergiftungen mit Azetylcholin hat sich das Präparat noch beträchtlich weiter verlängert. An diesem stark gedehnten Präparat ist nun die stärkste Wirkungspotenzierung eingetreten, eine schwächere zeigt das mäßig gedehnte Präparat, während das nicht gedehnte Organstück überhaupt keine solche aufweist.

Bemerkt sei, daß künstliche rasche Dehnung des Magenringes durch stärkere Belastung in wiederholten Versuchen keine verstärkte Potenzierung ergab. Von Bedeutung war lediglich die von vornherein am Präparat sich zeigende »Dehnungstendenz«, die seinem »Tonus« umgekehrt proportional erscheint. Niedriger Tonus des Froschmagenringes ist jedenfalls ein Faktor, welcher das Zustandekommen einer Wirkungs-

1) Trotzdem waren die mechanischen Bedingungen für die verschiedenen Präparate insofern nicht dieselben, als die Größe des Magens und seine Wandstärke mit der Größe des Tieres wechseln und die herausgeschnittenen Stücke nicht genau die gleiche Breite hatten.

potenzierung an ihm durch Azetylcholin-Physostigmin begünstigt.

Der Tonus der quergestreiften und glatten Muskulatur ist bekanntlich von ihrer Innervation abhängig. Durchschneidung der nervösen zugehörigen Bahnen bewirkt Erschlaffung, Tonusabfall. Ich habe in meinen Versuchen den von seinen Nerven abgetrennten, also nicht mehr tonisch innervierten Hautmuskelschlauch des Blutegels mit dem noch ganglienzellenhaltigen tonisch innervierten Muskelring des Froschmagens verglichen. Als allgemeines Ergebnis bei der Prüfung verschiedener Gifte an beiden Präparaten zeigte sich, wie aus der untenstehenden Tabelle zu ersehen ist, daß an dem Blutegelpräparat stärker und regelmäßiger Wirkungspotenzierungen auftreten, als am Froschmagenring. Wie am Froschmagen allein, so erweist sich entsprechend aus einer Vergleichung von Froschmagen- und Blutegelpräparat die Bedeutung des Tonus oder des Dehnungszustandes der Organstücke für das Zustandekommen der Wirkungsverstärkung. Durch direkte Vergleichung zentrenhaltiger und zentrenfreier Blutegel- und Froschmagenpräparate sollen die hier gemachten Erfahrungen noch weiter experimentell verfolgt werden.

Zu den übrigen Giften und der Beeinflussung ihrer chemischen Reizwirkung durch Physostigmin und Guanidin (vgl. die Tabelle) ist im allgemeinen zu bemerken, daß letztere beide sich im großen ganzen an Blutegel- und Froschmagenpräparat gleichsinnig erregbarkeitssteigernd verhalten. Abgesehen von einigen Besonderheiten, auf die hier nicht eingegangen werden soll, erscheint die Wirkung des Guanidins wie eine abgeschwächte Physostigminwirkung.

Tabelle.

Substanz	Physostigmin		Guanidin	
	Blutegel	Froschmagen	Blutegel	Froschmagen
Azetylcholin .	++	++, +, θ	(+), θ , -	+, θ
Cholin	θ , -	-		
Cholinmuskarin	+, θ	-	θ , -	-
Pilokarpin . .	θ	θ		
Nikotin	+	θ		
Chinin	+	θ , -	+	θ , -
Baryt.	++, +	θ	+	(+), θ , -

Zeichenerklärung: ++ bedeutende Wirkungsverstärkung,
 + mäßige Wirkungsverstärkung,
 θ keine Wirkungsbeeinflussung,
 - Wirkungsverminderung.

Vergleicht man das Physostigmin in seinem Verhalten zu den anderen erregenden Giften, so ist das Fehlen einer Wirkungsverstärkung in seiner Kombination mit Pilocarpin und die starke Potenzierung der Barytwirkung am meisten auffällig.

Ein gleicher Angriffsort von Azetylcholin und Baryt am Bluteigel ist nicht sehr wahrscheinlich: Baryt gilt im allgemeinen als typisches Muskelgift; Azetylcholin, Muskarin, Pilocarpin als parasympathische Nervengifte. Trotz des wohl verschiedenen Angriffsortes ist die Wirkungsverstärkung am Bluteigel nächst dem Azetylcholin am stärksten beim Baryt ausgeprägt, wenn auch der Wirkungsmechanismus beim Zusammenwirken beider mit Physostigmin nach dem früher Gesagten durchaus verschieden sein kann.

Am meisten erstaunlich in den Versuchen ist aber die fehlende Wirkung des Physostigmins gegenüber dem Pilocarpin. Eigentümlich ist schon die schwache Wirkung des Pilocarpins am Bluteigel allein gegenüber der starken Wirkung des Cholinmuskarins. Während beide Gifte am Froschherzen und an Darm und Gebärmutter des Warmblüters etwa gleichstark wirken, ist die Pilocarpinwirkung am Bluteigel eine mindestens 100mal schwächere als die des Cholinmuskarins, ein Verhalten, das für einen anderen Angriffsort oder verschiedenen Wirkungsmechanismus beider Gifte spricht. Noch schwerer verständlich ist aber die aus zahlreichen Versuchen am Bluteigel erschlossene vollkommen fehlende Wirkungsverstärkung durch das Physostigmin. Kann man verstehen, daß die an sich verhältnismäßig starke Wirkung von Cholin und Cholinmuskarin durch das Physostigmin nur wenig oder nicht mehr erhöht wird, so fehlt doch jegliche Erklärung für die mangelnde Beeinflussung des Pilocarpins, das sonst nach seinem allgemeinen pharmakologischen Wirkungscharakter dem Azetylcholin und Muskarin recht nahe steht.

Überblickt man die gesamten Beobachtungen am Bluteigel- und Froschmagenpräparat, so ergibt sich, daß es, entgegen dem »Gesetz« von Bürgi, nicht möglich ist, aus den mehr oder weniger bekannten Angriffsorten zweier Gifte im voraus zu ermessen, wie sich ihre Kombination synergistisch verhalten wird. Die Beobachtungen zeigen zugleich, wie die Wirkungen derselben Gifte von einem Objekte zum anderen wechseln, ja wie sie an demselben Material weitgehenden Schwankungen unterworfen sind. Diese Ergebnisse machen es begreiflich, daß man an Darm und Gebärmutter des Warmblüters ein gesetzmäßiges Verhalten beim Zusammenwirken mehrerer Gifte ebensowenig gefunden hat. Sie sind aber auch geeignet, zum Verständnis zu bringen, daß bei den synergistischen Untersuchungen anderer

Autoren (Straub¹⁾, Meißner²⁾ mit Morphin-Narkotin, Kochmann³⁾, Bürgi⁴⁾, Storm van Leeuwen⁵⁾ mit Chloroform-Äther, Mansfeld⁶⁾, v. Issekutz⁷⁾ mit Magnesiumsulfat-Urethan) am ganzen Tier unregelmäßige und einander widersprechende Befunde erhalten wurden.

Zusammenfassung.

Zu vergleichenden Versuchen diente ein zentrenfreies Präparat vom Hautmuskelschlauch des Blutegels und ein zentrenhaltiger Froschmagenring. An ihnen wurden die erregenden Gifte Azetylcholin, Cholin, Cholinmuskarin (Nitrosocholin), Pilocarpin, Nikotin, Chinin und Baryt für sich allein und in Kombination mit dem erregbarkeitssteigernden Physostigmin und Guanidin geprüft. Dabei erwies sich das Blutegelpräparat als empfindlicher gegenüber der Mehrzahl der Substanzen allein, und auch Wirkungspotenzierungen traten an ihm viel regelmäßiger und stärker auf als am Froschmagenring, eine Erscheinung, die wohl zum Teil mit dem Fehlen und Vorhandensein nervöser Zentren und dem von ihnen abhängigen Tonus der Präparate zusammenhängt.

Auch die Wirkungsstärke der einzelnen Gifte ergab am Blutegel konstantere Werte als am Froschmagen. Interesse verdienen hier vor allem die relativen Wirkungsstärken der pharmakologisch einander nahestehenden Gifte Azetylcholin, Cholin, Cholinmuskarin und Pilocarpin. Am Blutegel wie am Froschmagen ist unter diesen das Cholinmuskarin am wirksamsten. Eine Konzentration 1 : 100 000 besitzt am Blutegel die Wirkung wie das Azetylcholin 1 : 10 000; bemerkenswerterweise wirken hier Azetylcholin und Cholin etwa gleich stark, Pilocarpin dagegen viel schwächer. Eine Lösung von Pilocarpin 1 : 5000 ist schwächer wirksam als eine solche von Cholinmuskarin 1 : 500 000, während an anderen biologischen

1) W. Straub, Die pharmakodynamische Wirkung des Narkotins im Opium. *Biochem. Zeitschr.* 41, 419 (1912). — Derselbe, Über die Beeinflussung der Morphinwirkung durch die Nebenalkaloide des Opiums. *Ebenda* 57, 156 (1913).

2) R. Meißner, Über die Beeinflussung der Morphinwirkung durch die Nebenalkaloide des Opiums. *Ebenda* 54, 395 (1913). — Derselbe, Erwiderung auf W. Straubs Bemerkungen. *Ebenda* 67, 502 (1914).

3) M. Kochmann, E. Damköhler, a. a. O.

4) E. Bürgi, a. a. O. S. 23.

5) W. Storm van Leeuwen, Über den Synergismus von Arzneimitteln. II. *Arch. f. d. ges. Physiologie* 166, 65 (1916).

6) G. Mansfeld, Über das Wesen synergetischer Arzneiwirkungen. I. Mitteilung. *Ebenda* 161, 446 (1915).

7) B. v. Issekutz, Über die kombinierte Wirkung des Magnesiumsulfats mit verschiedenen Narkotika. *Therapeutische Monatshefte* 29, 380 (1915).

Objekten beide Substanzen etwa gleichstarke Wirkung besitzen. Auch am Froschmagen zeigten sich an der genannten Gruppe von Giften ähnliche Unterschiede, nur daß an diesem das Pilocarpin manchmal kräftige Kontraktionen auslöste. Nikotin, Chinin und Baryt erwiesen sich am Blutegel gleichfalls wirksamer als am Froschmagen.

Sehr verschieden verhielten sich beide Präparate aber namentlich gegenüber der Beeinflussung der chemischen Reizwirkung genannter Gifte durch Physostigmin und das im großen ganzen entsprechend, aber schwächer wirksame Guanidin.

Der am meisten ausgeprägte potenzierte Synergismus wurde am Blutegelpräparat durch die Kombination von Azetylcholin und Physostigmin beobachtet. Die schwach erregende Wirkung des Azetylcholins, welche hier bis zur Wirkung des Cholins herabgedrückt erscheint, kann durch lediglich erregbarkeitssteigernde Konzentrationen von Physostigmin millionenfach gesteigert werden, während das Cholin in seiner Wirkung nicht verstärkt wird. Vielleicht erklärt sich dies Verhalten dadurch, daß das namentlich in alkalischer Lösung unbeständige Azetylcholin am Orte seiner Wirkung in Cholin und Essigsäure gespalten wird, eine Zersetzung, die das Physostigmin verhindert. Dafür sprechen Versuche mit Säuren, welche zeigten, daß sich auch durch solche die Azetylcholinwirkung bedeutend verstärken läßt. Immerhin könnte dieser Synergismus Azetylcholin-Physostigmin aber auch ein durchaus spezifischer sein, unabhängig oder nur teilweise abhängig von einer Verseifung des Cholinesters, angesichts der Beobachtung, daß der unveränderliche Baryt gleichfalls weitgehend durch Physostigmin verstärkt wird, während andererseits das am Blutegel verhältnismäßig ebensowenig wirksame Pilocarpin unbeeinflusst bleibt.

Die vollkommen fehlende Wirkungsverstärkung des Pilocarpins durch Physostigmin, die geringfügige Verstärkung des Cholinmuskarins durch dasselbe neben der weitgehenden Potenzierung der Wirkungen von Azetylcholin und Baryt bilden das wichtigste Ergebnis der Untersuchungen am Blutegelpräparat. Am Froschmagenring zeigte sich dagegen durch Physostigmin eine Wirkungspotenzierung nur gegenüber dem Azetylcholin, und auch diese nicht regelmäßig, während die anderen Substanzen, wie der Baryt, nicht quantitativ beeinflusst wurden, oder sogar regelmäßig in antagonistischer Richtung, wie das Cholinmuskarin.

Die Gesamtheit der Versuche lehrt, wie wenig es möglich ist, im voraus das synergistische Verhalten der Kombination zweier Gifte zu berechnen.