

dopo 10 giorni (1:4.000) resta pressocchè costante anche dopo 2 mesi. Appare evidente come in queste culture non tutta la digitonina presente venga attaccata o che, almeno, il processo decorra più lentamente. Da queste prove si deduce che il ceppo 2, pur non essendo il responsabile dell'attacco della digitonina, favorisce l'azione del ceppo 1. Tale potenziamento può forse essere messo in relazione con la utilizzazione degli zuccheri contenuti nella molecola della digitonina, glucosio, galattosio e xilosio, in quanto è stato osservato che solo questi zuccheri e il saccarosio sono caratteristicamente metabolizzati dal microrganismo in parola, mentre esso risulta inattivo su tutti gli altri glucidi saggiati allo scopo di identificarlo. Il ceppo 3 risulta, evidentemente, un semplice casuale accompagnatore. Nelle culture, sia del ceppo 1 che della miscela 1 e 2 saggiate a tempi successivi, non si sono peraltro mai potuti finora determinare zuccheri liberi ed il pH è rimasto sempre pressocchè inalterato (pH 6,6-6,7 in culture di 2 mesi).

Dalla estrazione eterea del precipitato formatosi nel liquido culturale, raccolto centrifugando, si ottenne una sostanza a P. F. 267-270°C, cristallizzabile da acetone, solubile in quasi tutti i solventi organici, insolubile in acqua. Non essendo, però, tutto il precipitato estraibile con etere, la parte residua dopo l'estrazione, venne di nuovo raccolta centrifugando e seccata in stufa. Questa porzione, insolubile in tutti i solventi si suppose essere un digitonide formatosi tra la digitonina presente nel mezzo nutritivo e la sostanza derivatane. Allo scopo di scindere questo composto nei suoi componenti, digitonina e sostanza sterolica, esso venne trattato con piridina ed etere<sup>1</sup>. Dalle acque madri piridin-eteree si ottenne così una nuova porzione di sostanza avente P. F. 275°, mentre, lavando il precipitato formatosi aggiungendo l'etere alla piridina, con alcool etilico all'85%, si ottiene della digitonina inalterata. (P. F. 235°, titolo emolitico come quello di partenza.)

È chiaro, perciò, che non tutta la digitonina presente nel mezzo culturale viene attaccata dal batterio, ma una parte di essa si lega con la sostanza che precipita per azione del microrganismo a costituire un composto, probabilmente un digitonide, che la rende non ulteriormente suscettibile di attacco. Questo appare evidente anche dall'esame dei dati emolitici di culture molto vecchie, ad esempio della miscela 1 e 2; infatti la cultura integra, in presenza quindi del precipitato, non presenta più alcun potere emolitico, mentre la stessa, dopo estrazione eterea, emolizza ancora i globuli (1:2.500).

La sostanza ottenuta dall'estrazione eterea, venne pure saggiate, allo scopo di determinarne il comportamento sulle emazie di montone.

Essa si è dimostrata completamente inattiva sui globuli rossi ed, in presenza di digitonina, essa mostra una azione nettamente antiemolitica rispetto a quest'ultima. Così pure essa agisce come antiemolitica rispetto alla emolisi da ipotonica e su emolisi specifica con siero emolitico. Data l'insolubilità della sostanza sperimentata in soluzione fisiologica, essa venne usata in soluzione acetonica e perciò nella lettura dei titoli emolitici si dovette sempre tener conto dei controlli eseguiti con diluizioni corrispondenti di acetone per sceverare l'azione antiemolitica della sostanza in esame dalla attività emolitica dell'acetone.

C. ARNAUDI, A. SCHIESSER e R. ALLEGRAZIA

Istituto di Microbiologia Generale Agraria e Tecnica dell'Università di Milano, 20 febbraio 1951.

<sup>1</sup> R. SCHOENHEIMER e H. DAM, Z. physiol. Chem. 59, 215 (1933).

### Summary

An organism has been isolated through enrichment cultures at 40°C which could convert digitonin into a substance or a complex of substances having a melting point between 263°C and 275°C. It is not soluble in water, devoided of hemolytic activity, antihemolytic with regard to digitonin itself; it prevents hemolysis due to low osmotic pressure and specific hemolysis due to hemolytic serum. This attack is only partial, since digitonin is partially linked with the substance which precipitates through the action of the organism. From these two substances a compound results, probably a digitonide, which cannot be attacked anymore by the organism.

### Der Einfluß des Sonnenlichtes auf den Glykosidgehalt von Digitalisblättern

In einer längere Zeit zurückliegenden Arbeit hat DAFERT<sup>1</sup> die Feststellung gemacht, daß sich eine abends geerntete Blattdroge von *Digitalis purpurea* L. bedeutend wirksamer erweist als eine in den frühen Morgenstunden gesammelte. Er hatte damals zweimal (Mai und Juli 1920) an zwei aufeinanderfolgenden Tagen um etwa 6 Uhr abends bzw. 4 Uhr morgens die Digitalisblätter geerntet und teils sofort in frischem Zustand mit 96%igem Alkohol extrahiert, teils zuerst bei 70° getrocknet und dann am Frosch nach der 2-Stunden-Methode von PICK und WASICKY<sup>2</sup> geprüft. Dieser Befund spiegelt sich auch heute noch in der Literatur wider, vor allem in Lehrbüchern und Arzneibuchkommentaren, in denen die günstigsten Erntebedingungen für die Digitalisblätter behandelt werden. In gleichem Sinne, allerdings nicht nur den Zeitraum eines Tages betreffend, sind die Untersuchungen von McCREA<sup>3</sup> zu werten, nach denen die Bestrahlung von Keimlingen und jungen Pflanzen von *Digitalis purpurea* mit ultraviolettem Licht zu einer 35%igen Steigerung der physiologischen Wirksamkeit führte. LEONARD und ARTHUR<sup>4</sup> fanden allerdings bei einer Nachprüfung keinen Unterschied im Glykosidgehalt von Digitalispflanzen, die mit oder ohne UV-Bestrahlung aufgezogen worden waren, während BRAUN<sup>5</sup> bei seinen Untersuchungen über den Einfluß langwelliger UV-Strahlen auf *Digitalis purpurea* sogar eine Verringerung des Wirkstoffgehaltes um 43% beobachten konnte.

Die zum Teil untersuchungstechnisch nicht voll befriedigenden bzw. die einander widersprechenden Literaturangaben über den Einfluß vom ultraviolettem Licht auf den Gehalt von Digitalisblättern an herzwirksamen Glykosiden veranlaßten uns, vor allem den nach den Untersuchungen von DAFERT immerhin möglichen Tagesrhythmus im Auf- und Abbau dieser Glykoside einer Nachprüfung zu unterziehen. Wir bedienten uns hierbei einerseits des von LINDNER<sup>6</sup> modifizierten Verfahrens von KNAFFL-LENZ<sup>7</sup>, nach dem der Digitalisauszug Meerschweinchen intravenös infundiert und der Herzstillstand mittels eines Kathodenstrahl-oscillographen festgestellt wird (Aussetzen der Aktions-

<sup>1</sup> O. DAFERT, Angew. Botanik 3, 23 (1921).

<sup>2</sup> E. P. PICK und R. WASICKY, Wien. med. Wschr. 67, 290 (1917).

<sup>3</sup> A. McCREA, Science 67, 277 (1928).

<sup>4</sup> C. S. LEONARD und J. M. ARTHUR, J. Amer. Pharm. Assoc. 23, 224 (1934).

<sup>5</sup> W. BRAUN, Beitr. Biol. Pflanzen 26, 331 (1939). Ref. nach Chem. Zbl. 1940, I, 2347.

<sup>6</sup> A. LINDNER, Sci. Pharm. 18, 149 (1950).

<sup>7</sup> E. KNAFFL-LENZ, J. Pharmacol. 29, 407 (1926); Arch. exper. Path. Pharm. 135, 259 (1928).

|                                   | Standort   | Erntedatum  | Erntezeit Stunde | Biologischer Wirkungswert<br>Dosis letalis in Gramm Droge<br>pro Kilogramm Tiergewicht |        | Glykosidgehalt in<br>Prozent berechnet<br>als Digitoxin nach<br>der chemischen<br>Methode |
|-----------------------------------|------------|-------------|------------------|--|--------|---|
|                                   |            |             |                  | Meerschweinchen  | Frosch |   |
| Versuch I                         | Korneuburg | 27. 4. 1948 | 18               | —  | 0,37   | 0,24  |
| Sonnentag                         | Korneuburg | 28. 4. 1948 | 8                | —  | 0,38   | 0,26  |
| <i>Digitalis lanata</i>           | Korneuburg | 28. 4. 1948 | 18               | 0,117  | 0,37   | 0,23  |
| 1. Vegetationsjahr                | Korneuburg | 29. 4. 1948 | 6                | 0,130  | 0,38   | 0,22  |
| Versuch II                        |            |             |                  |  |        |   |
| Sonnentag <i>Digitalis lanata</i> | Schwechat  | 30. 5. 1949 | 20               | 0,107  | 0,35   | 0,29  |
| 1. Vegetationsjahr                | Schwechat  | 31. 5. 1949 | 6                | 0,117  | 0,34   | 0,30  |
| Versuch III                       |            |             |                  |  |        |   |
| Sonnentag <i>Digitalis lanata</i> | Wien       | 31. 5. 1949 | 18               | 0,109  | 0,35   | 0,27  |
| 2. Vegetationsjahr                | Wien       | 1. 6. 1949  | 8                | 0,104  | 0,34   | 0,27  |
| Versuch IV                        |            |             |                  |  |        |   |
| Regentag <i>Digitalis lanata</i>  | Schwechat  | 29. 6. 1949 | 18               | 0,078  | 0,27   | 0,37  |
| 1. Vegetationsjahr                | Schwechat  | 30. 6. 1949 | 6                | 0,077  | 0,28   | 0,37  |

ströme des Herzens), andererseits prüften wir die Digitalisblätter auch am Frosch (*Rana esculenta*), jedoch mittels der 4-Stunden-Methode, nach der die offizinellen *Folia Digitalis* des D.A.B. VI eingestellt werden sollen<sup>1</sup>. Schließlich führten wir zum Vergleich noch eine chemische Untersuchung aus, und zwar verwendeten wir das auf der Keller-Kilianischen Digitoxosereaktion beruhende, von Soos<sup>2</sup> angegebene photometrische Verfahren, um daraus einen Anhaltspunkt für den jeweils vorliegenden Glykosidgehalt – bezogen auf Digitoxin – gewinnen zu können. Die Versuche wurden mit *Digitalis lanata* Ehrh. im ersten und zweiten Vegetationsjahr aus dem Versuchsgarten des Pharmakognostischen Institutes in Wien bzw. in Korneuburg bei Wien und aus einem privaten Garten in Schwechat bei Wien durchgeführt. Das Einsammeln der Blätter erfolgte am Abend eines sonnigen Tages und am darauffolgenden Morgen (Versuch I). Denselben Versuch wiederholten wir ein Jahr später unter ähnlichen Bedingungen (Versuche II und III) und am Abend eines Regentages wie am darauf folgenden Morgen (Versuch IV). Die Blätter wurden jedesmal sofort nach der Ernte im Trockenschränk bei 60° getrocknet und nach dem Pulverisieren untersucht.

Nach den aus der Tabelle ersichtlichen Untersuchungsergebnissen besteht praktisch *kein Unterschied* im physiologischen Wirkungswert zwischen den am Abend und am darauffolgenden Morgen geernteten Blättern von *Digitalis lanata*, und zwar gleichgültig, ob die Pflanzen vorher mindestens einen Tag lang der direkten Sonnenbestrahlung ausgesetzt waren oder ob Regenwetter herrschte. Ebenso konnte nach der chemischen Untersuchung kein über die Digitoxosestufe hinausgehender Abbau der Glykoside eingetreten sein.

Um jedoch auch den Einfluß eines länger dauernden Lichtentzuges feststellen zu können, wurden einige Pflanzen von *Digitalis lanata*, die sich im ersten Vegetationsjahr befanden und im Versuchsgarten im Freien aufgezogen worden waren, nach Entnahme von Blattproben (abends) 14 Tage lang im Keller unter nahezu vollständiger Ausschaltung des Tageslichtes bei sonst normaler Pflege aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden abermals Blattproben entnommen und mittels der oben angegebenen Methoden untersucht. Das Ergebnis war:

*Vor Aufbewahrung im Dunkeln*: Dosis letalis in Gramm Droge (Trockensubstanz) pro Kilogramm Versuchstier

0,078 (Meerschweinchen), 0,27 (Frosch) und 0,37 % Glykoside, berechnet als Digitoxin (chemische Methode).

*Nach 14tägiger Aufbewahrung im Dunkeln*: Dosis letalis in Gramm Droge (Trockensubstanz) pro Kilogramm Versuchstier 0,078 (Meerschweinchen), 0,28 (Frosch) und 0,35 % Glykoside, berechnet als Digitoxin (chemische Methode).

Da selbst die vierzehntägige Aufbewahrung der Digitalisplanten im Dunkeln noch keine Abnahme der Wirksamkeit ergab, muß wohl die auf Grund weit zurückliegender Untersuchungen auch heute noch vielfach vertretene Ansicht, daß während der Nacht durch Abbau der herzwirksamen Glykoside in den Blättern der Pflanze eine beträchtliche Wirkungsabnahme erfolgt, während des Tages aber unter dem Einfluß des Sonnenlichtes die Wirksamkeit wieder ansteigt, als irrig bezeichnet werden. Ein Abbau der Glykoside bis zu den Aglykonen oder eine teilweise Abspaltung von Digitoxose aus den Glykosiden im Dunkeln findet nach der hier vorgenommenen chemischen Untersuchung jedenfalls nicht statt.

L. FUCHS, E. SOOS und I. KABERT

Pharmakognostisches Institut der Universität Wien, den 12. Mai 1951.

#### Summary

Repeated examinations of *Folia Digitalis lanata* Ehrh. collected in the evening and the next morning have shown no difference in their physiological activity (Dosis letalis for guinea pig and frog) and in their glycoside content. Therefore, the belief – still widely held – that a decrease of heart-effective digitalis-glycosides, and with it a decrease of their activity, takes place during the night, is disproved. Even plants of digitalis, after having been kept in the dark for a fortnight, showed the same activity and the same content of glycosides as before. Therefore, the time of day, at which *Folia Digitalis* is gathered, is not of decisive influence on the value of these drugs.

#### Les fibrilles collagènes de l'os (Etude au microscope électronique)

De nombreux auteurs ont étudié la structure du collagène dans différents tissus: peau<sup>1</sup>, tendons<sup>2</sup>, cartilage<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> J. GROSS et F. O. SCHMITT, J. Exp. Med. 88, 555 (1948).

<sup>2</sup> F. O. SCHMITT, E. HALL et M. A. JAKUS, J. Cellul. Comp. Physiol. 20, 11 (1942).

<sup>3</sup> C. WOLPERS, Das Leder 1, 3 (1950).

<sup>1</sup> Kommentar zum D.A.B., VI, I. Bd. (Verlag Springer, Berlin 1928), S. 647.

<sup>2</sup> E. SOOS, Sci. Pharm. 16, 1, 29 (1948).