

# Zur Kenntniss der brenzcatechinähnlichen Substanz der Nebennieren.

III. Mittheilung.

Von

Dr. Otto v. Fürth,

Privatdocenten und Assistenten des Instituts.

---

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 24.)

(Der Redaction zugegangen am 23. Dezember 1899.)

---

Im vorigen Jahre habe ich in dieser Zeitschrift<sup>1)</sup> eine Reihe von Beobachtungen über die brenzcatechinähnliche Substanz der Nebennieren mitgetheilt, die mich zur Vermuthung führten, dass die Substanz ein hydrirtes Dioxypyridin von der Zusammensetzung  $C_5H_7NO_2$  oder  $C_5H_9NO_2$  sein dürfte. Vor wenigen Monaten ist nun, gleichfalls in dieser Zeitschrift,<sup>2)</sup> eine Arbeit von John J. Abel, betitelt „Ueber den blutdruck-erregenden Bestandtheil der Nebenniere, das Epinephrin“, erschienen, deren Ergebnisse denjenigen meiner Untersuchungen in wesentlichen Punkten widersprechen. Abel hält das Epinephrin, eine alkaloidartige, bei der Kalischmelze Skatol liefernde Substanz, von der Zusammensetzung  $C_{17}H_{15}NO_4$  für den blutdrucksteigernden Bestandtheil der Nebennieren und spricht die Meinung aus, dass das von mir analysirte Produkt ein verunreinigtes Epinephrin gewesen sei. Dass die Sachlage

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVI, S. 15.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, S. 318. Vordem schon englisch: Bulletin of the John Hopkins Hospital, July 1897, S. 143 und Sept., Oct. 1898, American Journal of Physiology II, March 1, 1899.

keine so einfache sein könne, war schon dem Vergleiche der beiderseitigen Angaben zu entnehmen. Es musste sich da die Vermuthung aufdrängen, dass Abel einen anderen Stoff unter den Händen gehabt hat als ich: Aus den nachstehend angeführten Versuchen geht denn auch hervor, dass das von Abel in der Nebenniere aufgefundenene und analytisch charakterisirte Epinephrin durchaus verschieden ist von dem von mir studirten brenzocatechinähnlichen Bestandtheile der Nebennieren, welcher letztere als der ausschliessliche Träger der blutdrucksteigernden Wirkung der Extracte anzusehen ist. Der Kürze wegen will ich für die von mir als wirksam angesprochene Substanz die Bezeichnung Suprarenin benutzen.

### **I. Vergleich des chemischen Verhaltens des Epinephrins und des Suprarenins.**

Abel hat das Epinephrin in der Weise dargestellt, dass er Nebennierenextract benzoylirte und das gereinigte Benzoylprodukt im Autoclaven bei einem Drucke von 3—5 Atmosphären mit 1—2% iger Schwefelsäure verseifte. Aus den so erhaltenen Lösungen von hochgradiger physiologischer Wirksamkeit wurde das Epinephrin entweder durch sehr verdünntes Ammoniak, oder aber durch pikrinsaures Natron gefällt. Die Analysen des Epinephrins beziehen sich auf die Ammoniakfällung, auf das Pikrat, sowie auf Bisulfate, Hydrochlorate, Hydrobromate und Acetylverbindungen, die aus dem Pikrate dargestellt worden waren.

Ich untersuchte zunächst, ob nach dem von mir angegebenen Verfahren durch Fällung mit ammoniakalischem Blei oder ammoniakalischem Zink von den Höchster Farberwerken dargestellte Präparate, welche eine äusserst wirksame, aber keineswegs reine Lösung des Suprarenins darstellen, eine Substanz vom Verhalten des Abel'schen Epinephrins enthalten. Es gelang in der That, aus ihnen durch Fällung mit sehr verdünntem Ammoniak oder mit pikrinsaurem Natron wenn auch nur geringe, so doch immerhin zur Identificirung ausreichende Mengen einer solchen Substanz zu erhalten.

Concentrirte (10 bis 25% ige) Lösungen jener Präparate

warden mit stark verdünntem Ammoniak tropfenweise versetzt, wobei ein voluminöser brauner Niederschlag ausfiel. Die Filtrate der Ammoniakfällung enthielten das nimmehr von der Epinephrinbeimengung befreite Suprarenin.<sup>1)</sup> Selbst durch sorgfältigstes Auswaschen der Epinephrinniederschläge unter Verwendung eines Saugfilters gelang es nicht immer, die Suprareninbeimengungen, welche den harzigen Niederschlägen fest anhafteten und die, namentlich wenn die Epinephrinfällung in einer sehr concentrirten Lösung erfolgte, recht beträchtlich sein konnten, zu entfernen. Nöthigenfalls führte wiederholtes Lösen des Niederschlags in verdünnter Säure und neuerliche Fällung mit verdünntem Ammoniak zum Ziele.

Zum Zwecke der Darstellung eines Pikrates wurde der Ammoniakniederschlag in verdünnter Schwefelsäure gelöst und die Lösung mit pikrinsaurem Natron versetzt, wobei ein voluminöser gelbbrauner Niederschlag von harziger Beschaffenheit ausfiel.

Ich führe eine Reihe chemischer Reactionen, welche das so nach Abel dargestellte Produkt und das Suprarenin von einander unterscheiden, in tabellarischer Zusammenstellung an.

|   | Durch Ammoniak<br>gefällte Substanz<br>(Epinephrin)           | Suprarenin   |
|---|---|--|
| In Wasser                                       | sehr schwer löslich   | sehr leicht löslich.   |
| Verdünntes Ammoniak                             | brauner, flockiger<br>Niederschlag, im<br>Ueberschuss löslich | keine Fällung; rosenrothe<br>Färbung.                                    |
| Eisenchlorid                                    | keine Farben-<br>reaction                                     | smaragdgrüne Färbung in<br>saurer, carminrothe in<br>alkalischer Lösung. |
| Erwärmen mit ammonia-<br>kalischer Silberlösung | keine Reduction   | kräftige Reduction.  |

<sup>1)</sup> Ich habe mich durch Eindampfen des neutralisirten Filtrates der Ammoniakfällung überzeugt, dass auch nach hochgradiger Concentration desselben keine neuerliche Epinephrinfällung durch verdünntes Ammoniak erzielt werden kann.

|  | Durch Ammoniak<br>gefällte Substanz<br>(Epinephrin) | Suprarenin                                       |
|--|---|--|
| Mandelin'sches<br>Reagens (vanadinsaures<br>Ammon in schwefel-<br>saurer Lösung) | keine Farben-<br>reaction                           | violettrothe, schnell ver-<br>blassende Färbung. |
| Kalischmelze   | Indol- oder Skatol-<br>Geruch <sup>1)</sup>         | kein Indol- oder Skatol-<br>geruch.              |
| Pikrinsäure  | gelber, flockiger<br>Niederschlag                   | keine Fällung.                                   |
| Phosphorwolframsäure<br>+ Salzsäure  | weisser, flockiger<br>Niederschlag                  | »  |
| Kaliumquecksilberjodid<br>+ Salzsäure  | »   | »  |
| Conc. Zinkchloridlösung  | »   | »  |
| Gerbsäure  | »   | »  |

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich in Ueberein-  
stimmung mit meinen früheren Versuchen, dass die brenz-  
catechinähnliche Substanz (das Suprarenin) weder Skatol noch  
Indol liefert, auch durch die typischen Fällungsmittel der  
Alkaloide nicht gefällt wird. Da diese Eigenschaften dem  
Epinephrin Abel's zukommen, so ist an eine Identität von  
Epinephrin und Suprarenin nicht zu denken. Ferner ergibt  
sich, dass mit Ammoniak aus Nebennierenextracten eine  
Lösung erhalten werden kann, die in Betreff des Verhaltens  
bei der Kalischmelze und gegen Alkaloidreagentien mit Abel's  
Epinephrin zusammenfällt, die Farbenreactionen mit Eisen-  
chlorid und mit Ammoniak, sowie das Reduktionsvermögen  
aber vermissen lässt. Abel's Epinephrin, wenigstens die  
«physiologisch wirksame Modification» desselben gibt, seiner

<sup>1)</sup> Dort, wo es sich darum handelt, kleine Mengen von Skatol  
nachzuweisen, empfiehlt es sich, die nahezu erkaltete Kalischmelze mit  
ein wenig Wasser zu versetzen. Skatolmengen, die sonst leicht der  
Beobachtung entgehen, können so am charakteristischen Geruche leicht  
erkannt werden.

Mittheilung nach, die Reactionen beider Körper. Der von mir dargestellte alkaloidartige, skatolliefernde Körper muss somit entweder vom Abel'schen Epinephrin verschieden sein, oder Abel hat ein mit Suprarenin verunreinigtes Produkt vorgelegen.

## II. Wirkung auf den Blutdruck.

Für das durch Fällung mit Ammoniak erhaltene Epinephrin hat bereits Abel festgestellt, dass die Präparate nur so lange eine physiologische Wirksamkeit besitzen, als dieselben mit Jodwasser und Ammoniak eine Rosafärbung geben (S. 328). Dem oben Gesagten zufolge ist aber diese Reaction nicht dem durch Ammoniak fällbaren Skatolderivat, sondern dem Suprarenin eigenthümlich. Abel vermisste diese Reaction in der That bei einem Theile seiner Epinephrinpräparate und deutete diesen Befund durch die sonst nicht weiter gestützte Annahme der Existenz zweier Modificationen des Epinephrins, einer physiologisch wirksamen und einer unwirksamen. Abel fand ferner alle jene Verbindungen, die er aus dem durch Ammoniakfällung gewonnenen Epinephrin dargestellt hatte, sowohl Pikrate als auch Bisulfate, wirkungslos, welche Thatsache er derart erklärt, dass die Bereitungsweise aus der freien Base Umlagerungen nicht ausschliesse (S. 328).

Dagegen fand Abel Niederschläge wirksam, die er erhielt, indem er sein gereinigtes Benzoylprodukt im Autoclaven mit verdünnter Schwefelsäure spaltete und die Lösung nach Entfernung der Benzoësäure direkt mit pikrinsaurem Natron fällte. Die so erhaltenen »rohen Pikrate« erwiesen sich kräftig blutdrucksteigernd.

Ich habe aus 1 kg Rindsnebennieren das Benzoylprodukt nach der Vorschrift Abel's dargestellt und gereinigt. Der Niederschlag wurde mit Wasser gewaschen, in Eisessig gelöst, die Lösung in Aether gegossen, die saure, ätherische Lösung durch Schütteln mit Wasser, Natronlauge, verdünnter Schwefelsäure, dann wieder mit Wasser gewaschen; sie hinterliess beim Eindunsten einen zähen, gelben Rückstand, der beim Eintrocknen spröde wurde. Das so gereinigte Produkt wurde 2 Stunden lang im Autoclaven bei 3—5 Atmosphären Druck

mit 2<sup>o</sup>iger Schwefelsäure erhitzt. Eine Probe der vom ungelösten Rückstande abgegossenen Flüssigkeit gab, wie es Abel beschreibt, auf Zusatz von Ammoniak eine rosenrothe Färbung. Die saure Lösung wurde durch Schütteln mit Aether von Benzoësäure befreit und der gelöste Aether auf dem Wasserbade vertrieben. Auf Zusatz einer gesättigten Lösung von pikrinsaurem Natron zu der erkalteten Flüssigkeit schied sich ein spärlicher feinflockiger, gelber Niederschlag ab. Dieser wurde abfiltrirt, einige Male mit Wasser gewaschen, sodann in 5 ccm. heissen Wassers gelöst.

Von der so bereiteten gelben Lösung bewirkte eine Injection von 2 ccm. in die Vene eines 2 kg schweren Kaninchens einen Anstieg des Blutdrucks von 110 auf 130 mm. in der Dauer von wenigen Secunden, ohne Aenderung der Pulsfrequenz und des Pulsvolumens. Eine weitere Injection von 1 ccm. veranlasste eine Drucksteigerung von 90 auf 110 mm.

Das mit Zinkoxyd neutralisirte Filtrat der Pikrinsäurefällung wurde zunächst (um festzustellen, ob nicht vielleicht Erhitzen bei Gegenwart von Pikrinsäure die physiologische Wirksamkeit zerstört) nahezu bis zur Trockne am Wasserbade eingedampft, sodann auf 50 ccm., also auf das 10fache Volumen der Lösung des Niederschlags, verdünnt. Von dieser Lösung bewirkte 1 ccm. einen steilen Anstieg des Druckes von 102 auf 150 mm., unter beträchtlicher Pulsverlangsamung und Verdoppelung der Grösse der einzelnen Pulse auf der Höhe der Curve, die langsam wieder zum Anfangswerthe abfiel.

In noch deutlicherer Weise wurde der Beweis dafür, dass auch die Pikrinsäure-Niederschläge eine etwaige Wirksamkeit nur der Beimengung von Suprarenin verdanken, durch nachstehende Versuche erbracht.

Die etwa 10procentige, äusserst kräftig wirksame Lösung eines nach der Bleimethode dargestellten Präparates wurde mit gesättigter, wässriger Pikrinsäurelösung versetzt. Der voluminöse Niederschlag wurde auf einem Saugfilter gesammelt, sehr gründlich mit Wasser ausgewaschen und sodann in einigen Cubikcentimetern heissen Wassers gelöst. Die gesammte Menge

dieser Lösung, einem Kaninchen injicirt, bewirkte nicht die geringste Veränderung des Blutdrucks. Das Filtrat der Pikrinsäurefällung erwies sich dagegen so wirksam, dass noch nach Verdünnung desselben auf das 500fache des Ausgangsvolumens 1 cem. der Lösung den Blutdruck eines Kaninchens um 80 mm. erhöhte.

Ein ganz analoges Resultat ergab ein Versuch mit einem nach der Zinkmethode dargestellten Präparat, wo die Fällung in einer 2% Schwefelsäure enthaltenden Lösung durch pikrinsaures Natron vorgenommen wurde. Auch hier erwies sich der sorgfältig auf dem Saugfilter ausgewaschene, in heissem Wasser gelöste Niederschlag absolut unwirksam, während das auf ein Vielfaches verdünnte Filtrat den Blutdruck eines Kaninchens kräftig in die Höhe trieb.

In einem weiteren Versuche wurde aus 10 cem. der 25%igen Lösung eines nach der Zinkmethode dargestellten Präparates das Pikrat gefällt und der voluminöse Niederschlag derart gereinigt, dass er zweimal in heissem Wasser gelöst und durch Abkühlen wieder gefällt wurde. Das schliesslich erhaltene Präparat wurde in 10 cem. heissen Wassers gelöst. 3 cem. der erkalteten Lösung, einem Hunde von 6 kg Gewicht intravenös beigebracht, bewirkten nicht die geringste Veränderung des Blutdrucks. Das mit Natriumcarbonat neutralisirte Filtrat, das mit Pikrinsäure keine weitere Fällung gab, erwies sich dagegen so wirksam, dass, nach 50facher Verdünnung desselben mit Wasser, eine Injection von 2 cem. den Blutdruck von 154 auf 240 mm. erhöhte.

Aus den angeführten Thatsachen ergibt sich mit Bestimmtheit, dass dem durch Pikrinsäure fällbaren Bestandtheil, dem Epinephrin, keine blutdrucksteigernde Wirkung zukommt.

### III. Eisenverbindung des Suprarenins.

Die dem Suprarenin eigenthümliche Eisenreaction legte den Versuch nahe, die durch ihre schöne Färbung so scharf charakterisirte Eisenverbindung als solche zu isoliren und auf ihre physiologische Wirksamkeit zu prüfen.

Frische Rindsnebennieren wurden zerkleinert, mit Zinkstaub verrührt und durch wiederholtes Auskochen mit Wasser, dem einige Tropfen Schwefelsäure zugesetzt worden waren, extrahirt. Die filtrirte Extractionsflüssigkeit wurde eingedampft, der Rückstand mit Methylalkohol verrieben, die alkoholische Lösung mit einem Ueberschuss von neutralem Bleiacetat und aus dem Filtrat das Suprarenin durch ammoniakalisches Blei gefällt. Der Niederschlag wurde mit verdünntem Ammoniak gewaschen, in Methylalkohol suspendirt und durch Zusatz von concentrirter Schwefelsäure zersetzt. Die von schwefelsaurem Blei befreite methylalkoholische Lösung wurde mit Eisenchlorid versetzt und nun durch vorsichtigen Zusatz von Ammoniak neutralisirt. Der entstandene dunkelgefärbte, mit Ammonsulfat vermengte Niederschlag wurde abfiltrirt und das smaragdgrün gefärbte Filtrat durch weiteren Zusatz von Ammoniak alkalisch gemacht. Dabei schied sich die Eisenverbindung des Suprarenins in Form carminrother Flocken ab; der darüberstehende Alkohol erschien nur schwach röthlich gefärbt. Der Niederschlag wurde sogleich abfiltrirt, mit Methylalkohol gewaschen, sodann in stark verdünnter Essigsäure gelöst.

Die prachtvoll smaragdgrün gefärbte Lösung enthielt 0,0075 g Trockensubstanz im Cubikcentimeter. Eine Probe zeigte beim vorsichtigen Zusatz von Ammoniumcarbonat in typischer Weise den Farbenumschlag in Carminroth mit schönen blauen Zwischentönen und reducirte ammoniakalische Silberlösung sehr kräftig. Auf Zusatz von verdünnter Schwefelsäure verschwand die Grünfärbung; die nunmehr gelbbraune Flüssigkeit nahm auf Zusatz von vanadinsaurem Ammon eine schön violettrothe, schnell ablassende Färbung an.

1 cem. der 100fach verdünnten Lösung (enthaltend 0,000075 g) erhöhte den Blutdruck eines 2 kg schweren Kaninchens von 100 auf 124 mm. unter Verlangsamung und Vergrößerung der Herzaction.

1 cem. der 50fach verdünnten Lösung (0,00015 g) erhöhte den Druck von 110 auf 176 mm. unter Vergrößerung der Pulse auf das 3fache. Nach Abklingen der Wirkung sank der Druck auf 84 mm. herab.



1 cem. der 10 fach verdünnten Lösung (0,00075 g) erhöhte den Druck von 94 auf 170 mm. unter Vergrößerung der Pulse auf das 3fache: nachdem der Druck auf 84 mm. herabgesunken war, erhob er sich spontan wieder auf 112 mm.

1 cem. der unverdünnten Lösung (0,0075 g) bewirkte einen Anstieg auf 178 mm. unter Pulsverlangsamung und Vergrößerung der Pulse auf das 3fache. Die grossen Schwankungen hielten, von einzelnen unregelmässigen Pulsen unterbrochen, etwa 3 Minuten lang an; dann nahmen sie normale Grösse und Frequenz an, während der Druck ganz langsam und allmählich abzusinken begann: nach 5 Minuten betrug er noch 140 mm., nach 8 Minuten 135 mm., nach 12 Minuten 130 mm., nach 18 Minuten hatte er den Anfangswerth von 112 mm. erreicht, sank im Laufe der nächsten Zeit noch auf 100 mm. herab, um nach einigen Minuten sich wieder auf 110 mm. zu erheben.

Es ergibt sich sonach, dass bereits die Dosis von 0,000075 g pro Kilogramm Thier die maximale Drucksteigerung hervorgebracht hatte. Die 50fache Dosis hatte nur den Effect, den zeitlichen Verlauf der Blutdrucksteigerung bedeutend zu verlängern und zwar zu einer in früheren Versuchen niemals beobachteten Wirkungsdauer. Auffallend war weiter in diesem Falle das Fehlen toxischer Symptome, die sich in anderen Versuchen bereits bei bedeutend kleineren Dosen durch ein tiefes Absinken des Druckes unter den Anfangswerth nach Abklingen der Blutdrucksteigerung zu erkennen gaben. Diese Erscheinungen machen den Eindruck, als ob sich die physiologische Wirkung nicht auf einmal, sondern allmählich entfaltete, und legen den Gedanken nahe, dass der physiologischen Wirkung eine Dissociation der Suprarenin-Eisenverbindung vorangehe.

Bei einem andern Versuche ging ich derart vor, dass ich die Bleiverbindung, wie oben beschrieben, darstellte und zersetzte. Aus der mit Natriumcarbonat neutralisirten alkoholischen Zersetzungsflüssigkeit wurde durch Eisenchlorid die Eisenverbindung des Suprarenins gefällt, der mit Methylalkohol gewaschene Niederschlag in Wasser gelöst, die filtrirte Lösung mit Methylalkohol gefällt, der Niederschlag abfiltrirt und nun-

mehr in mit Salzsäure bzw. concentrirter Schwefelsäure angesäuertem Wasser gelöst.

Während essigsäure: smaragdgrüne Lösungen der Verbindung sich nach längerem Stehen unter Abscheidung eines dunkelgefärbten Niederschlags trüben, blieb die schwefelsäure und die salzsäure, gelbbraune Lösung beim Aufbewahren wochenlang unverändert. Die schwefelsäure Lösung gab mit Phosphorwolframsäure keinen Niederschlag: Phosphormolybdänsäure bewirkte Grünfärbung, aber keine Fällung. Beim vorsichtigen Neutralisiren färbte sich die Flüssigkeit smaragdgrün, ammoniakalische Silberlösung wurde kräftig reducirt. Eine grössere Menge der Flüssigkeit wurde mit Zinkoxyd eingedampft und der Rückstand vorsichtig mit Kali geschmolzen: ein skatolartiger Geruch war weder unmittelbar, noch nach Zusatz von Wasser wahrnehmbar.

Zum Zwecke physiologischer Versuche wurde die salzsäure Flüssigkeit tropfenweise mit Sodalösung bis zum Auftreten der smaragdgrünen Färbung versetzt.

Von der so erhaltenen Suprarenin-Eisenverbindung bewirkte bei einem 6 kg schweren Hunde eine intravenös beigebrachte Dosis von 0,0001 g einen Anstieg des mittleren Blutdruckes von 174 mm. auf 220 mm. Die Dauer der von Vergrösserung und Verstärkung der Herzaction begleiteten Drucksteigerung betrug etwa eine Minute.

Eine Dosis von 0,0006 g bewirkte unter erheblicher Pulsverlangsamung einen Anstieg des mittleren Druckes von 166 mm. auf 210 mm. Die einzelnen Herzactionen waren so vergrössert, dass die Spitzen der Pulselevationen die Höhe von 280 mm. erreichten. Die Dauer der Drucksteigerung betrug  $2\frac{1}{2}$  Minuten.

Eine Dosis von 0,006 g bewirkte einen Anstieg des mittleren Druckes von 170 auf etwa 220 mm. unter ausserordentlicher Verlangsamung und Verstärkung der Herzaction. Die Höhe der Pulselevationen konnte nicht festgestellt werden, da das Quecksilber aus dem Manometer geschleudert wurde. Die Periode der Vaguspulse dauerte 8 Minuten. Nach Abklingen der Wirkung sank bei frequenter Herzaction der Druck auf 120 mm. ab.

Eine Dosis von 0,012 g hatte einen ähnlichen Effect. Auf der Höhe der Wirkung wurde das Quecksilber aus dem Manometer geschleudert. Die Periode der Vaguspulse währte 14 Minuten.

In diesem Falle hatte also bereits eine Dosis von 0,000017 g der Suprarenin-Eisenverbindung pro Kilogramm Thier die durch den mittleren Blutdruck angezeigte maximale Gefässwirkung hervorgebracht. Eine weitere Steigerung der Dosis führte zu einer Vergrösserung und Verlangsamung der Herzaction von um so grösserer Dauer und Intensität, je höher die angewandte Dosis gewesen war.

Die Versuche beweisen endgültig die Identität der blutdrucksteigernden Substanz mit dem eisen-grünenden brenzcatechinähnlichen Bestandtheile der Nebennieren, dem Suprarenin.

#### Colorimetrisches Verfahren zur Schätzung des Suprarenin- gehaltes der Nebennieren.

Die Eisenverbindung des Suprarenins besitzt insofern einen gewissen Grad von Haltbarkeit, als sowohl die sauren smaragdgrünen, als auch die alkalischen carminrothen Lösungen sich Stunden lang ohne sichtliche Veränderung aufbewahren lassen. Die Haltbarkeit ist eine ausreichende, um den Versuch zu rechtfertigen, die schöne Färbung zu einer, wenn auch nur approximativen Schätzung des Suprarenin-gehaltes der Nebennieren zu verwerthen. Nach mannigfachen Vorversuchen ergab sich mir nachstehendes Verfahren als zweckmässig, das auf dem colorimetrischen Vergleiche der Suprarenin-Eisenverbindung in alkalischer Lösung mit der analogen Eisenverbindung des Brenzcatechins beruht.

Eine oder mehrere Rindsnebennieren wurden unter Vermeidung von Verlusten zerkleinert und unter Zusatz von Zinkstaub mit etwa 20 cem. 1%iger Zinksulfatlösung ausgekocht; die Flüssigkeit wurde durch ein Filter in einen Messkolben gegossen und der coagulirte Rückstand noch dreimal mit siedendem Wasser ausgezogen. Die vereinigten Filtrate wurden auf das Volumen von 100 cem. gebracht und von dieser Lösung 20 cem. abgemessen, mit 1 cem. einer alkalischen Seignettesalzlösung (180 g Natriumcarbonat und 240 g Seignettesalz im Liter enthaltend) und sodann mit 0,3 cem. einer 5%igen Eisenchloridlösung versetzt. Die so erhaltene schön carminrothe Flüssigkeit wurde, nach dem von Foppe-Seyster angegebenen Verfahren, mit Hilfe der colorimetrischen Doppelpipette mit einer 0,1%igen Brenzcatechinlösung verglichen, von der je 20 cem. 1 cem. der Seignettesalzlösung und 0,5 cem. der Eisen-

chloridlösung enthielten. Der Zusatz der Reagentien erfolgte unmittelbar vor der Bestimmung. Durch Wiederholung des Verfahrens mit neu abgemessenen Portionen gelang es, gut unter einander stimmende Parallelbestimmungen zu erhalten. Die angegebenen Verhältnisse müssen genau eingehalten werden, da sonst die colorimetrische Beobachtung durch Ungleichheit der Farbentöne erheblich erschwert ist. Ich führe die Ergebnisse der Versuchsreihe tabellarisch an.

| Zahl<br>der verarbeiteten<br>Nebennieren | Gewicht<br>der Nebennieren | Eine Nebenniere enthält Suprarenin <sup>1</sup> |         |
|--|----------------------------|---|---------|
|  |                            | Gramm   | Procent |
| 5  | 62                         | 0,021   | 0,17    |
| 1  | 20                         | 0,026   | 0,13    |
| 1  | 25,5                       | 0,026   | 0,10    |
| 1  | 12,4                       | 0,018   | 0,14    |
| 1  | 16,8                       | 0,023   | 0,14    |

#### IV. Wirkung subcutaner Suprarenininjectionen.

Ueber die Wirkung von Nebennierenextracten bei subcutaner Application liegen widersprechende Angaben vor. Foa und Pellacani<sup>2)</sup> beobachteten die Giftigkeit des auf diesem Wege beigebrachten Nebennierenextractes und schrieben demselben eine lähmende Wirkung auf nervöse Centren zu, welche Wirkung von Marino-Zucco, Guarnieri und Dutto<sup>3)</sup> auf Neurin bezogen wurde. Oliver und Schäfer<sup>4)</sup> sahen Kaninchen nach Subcutaninjection grosser Dosen von Nebennierenextract theils schnell, theils langsam zu Grunde gehen und beobachteten gelegentlich tiefe prämortale Temperatursenkungen. Cybulski<sup>5)</sup> machte eine Einwirkung auf das vasomotorische Centrum verbunden mit Anämie des Centralnervensystems und

1) Dieser Berechnung liegt die vorläufige Annahme zu Grunde, dass die Eisenverbindung des Suprarenins  $[C_5H_5NOH)_2 = 113]$  eine annähernd gleiche färbende Kraft besitze, wie jene des Brenzcatechins  $[C_6H_4(OH)_2 = 110]$ .

2) Arch. per le scienze med., III. 1879, IV. 1880 und VII. 1883.

3) Chem. Cbl. 1888. Moleschott's Beitr. XIV. Arch. ital. de Biologie X.

4) Journ. of Physiology XVIII. 1895.

5) Anzeiger der Akad. der Wiss. in Krakau. 4. März 1895.

eine Hyperämie der Lungen für die toxische Wirkung der Nebennierenextracte verantwortlich. Gourfein<sup>1)</sup> beobachtete Störungen der Respiration und Herzaction, Vaguslähmung und allgemeine Prostration. Neuerdings hat Swale Vincent<sup>2)</sup> auf Schäfer's Veranlassung die Wirkung subcutan injicirten Nebennierenextracts zum Gegenstande einer eingehenden Untersuchung an Fröschen, Ratten, Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen gemacht. Swale Vincent beobachtete jeweilig eine von rückwärts nach vorn fortschreitende centrale Lähmung, Blutungen aus Maul und Nase, Hämaturie, Dyspnoe und ferner zuweilen Convulsionen, sowie tiefe prämortale Temperatursenkungen.

Bisher war im Allgemeinen angenommen worden, dass im Gegensatze zur Wirkung intravenöser Injectionen auf dem Wege subcutaner Application kein ausgesprochener Einfluss auf den Blutdruck ausgeübt werden könne. Durch die von mir angewandten Darstellungsmethoden wurde ich in den Stand gesetzt, mit sehr concentrirten Suprareninlösungen zu experimentiren. Ich habe mich nunmehr überzeugt, dass es nur der Anwendung entsprechend grosser Dosen bedarf, um auch auf subcutanem Wege ähnliche Drucksteigerungen wie bei intravenöser Application zu erzielen. Da dabei merkwürdige Vergiftungserscheinungen auftraten, dürfte eine genauere Beschreibung dieser Versuche, die zum Theile in Gemeinschaft mit Prof. Gottlieb im pharmakologischen Institute in Heidelberg ausgeführt worden sind, gerechtfertigt erscheinen.

Bei einem Kaninchen von 1½ kg Gewicht trat nach subcutaner Injection von 0.1 Suprarenin (1 ccm. einer 10%igen Lösung) nach Ablauf einer Minute eine hochgradige Verlangsamung der Herzaction (von 44 Schlägen auf 10 in 10 Minuten) und eine Vergrösserung der Pulse auf. Gleichzeitig begann der Druck langsam anzusteigen, worauf die Pulse kleiner und frequenter wurden. Nach 8 Minuten hatte der Druck seinen Höhepunkt erreicht: er war von 114 auf 148 mm. angestiegen. Die Pulse waren nicht wesentlich grösser und frequenter als im Beginn des Versuchs. Jetzt begann der Druck langsam abzusinken: nach 15 Minuten betrug er 125 mm. Nun aber stellte sich, ohne gleichzeitige Aenderung der Herzaction, eine colossale Dyspnoe ein. Die Respirations-

1) Comptes rendus 1895.

2) Journ. of Physiology XXII. 1897.

frequenz bis dahin 88—95 in der Minute) stieg plötzlich auf 200 an. Das Thier wurde vom Kymographion entfernt; die Dyspnoe hielt an und 1 $\frac{1}{4}$  Stunden nach der Injection erfolgte der Tod unter Austritt von Flüssigkeit aus Maul und Nase.

Ein mitteigrosses Kaninchen erhielt 0.1 g Suprarenin subcutan. Der Druck stieg im Laufe einer halben Minute unter Vergrösserung und Verlangsamung der Pulse von 120 auf 160 mm. empor; der Anstieg war von einzelnen tiefen Senkungen unterbrochen; die grossen, etwas unregelmässigen und anacroten Pulse dauerten 1 Minute an; dann wurden die Pulse klein, sehr frequent und unregelmässig, während der Druck sich weiter auf 180 mm. erhob, um dann im Laufe einer halben Stunde zur Norm abzusinken. Im absteigenden Aste der Curve fiel der Mangel respiratorischer Schwankungen auf. Eine weitere intraperitoneale Injection von 0.1 Suprarenin beeinflusste den Blutdruck nicht im geringsten. Nach etwa  $\frac{3}{4}$  Stunden wurde der Versuch abgebrochen, ohne dass auffallende Erscheinungen von Seiten der Respiration sich bemerkbar gemacht hätten.

Ähnliche Erscheinungen traten bei einem Kaninchen von 2 kg Gewicht nach subcutaner Injection von 0.2 g Suprarenin (2 ccm. einer 10 $\frac{1}{2}$  igen Lösung) auf. Der Druck stieg hier jedoch sehr langsam im Laufe von 25 Minuten von 120 auf 160 mm. Sodann machten die bis dahin langsamen, grossen und etwas unregelmässigen Herzactionen plötzlich sehr frequenten und kleinen Pulsen Platz, während sich der Druck gleichzeitig auf 180 mm. erhob, um dann langsam und regelmässig zum Anfangswerthe abzusinken, der erst nach Ablauf einer Stunde erreicht wurde. Auch hier waren keine auffallenden respiratorischen Symptome zu bemerken.

Ein Kaninchen von 1950 g verfiel 20 Minuten nach subcutaner Injection von 0.1 g Suprarenin in heftige Dyspnoe, stürzte zur Seite und starb innerhalb weniger Minuten unter leichtem Opisthotonus.

Bei einem Kaninchen von 2 kg Gewicht trat 25 Minuten nach subcutaner Injection von 0.2 g Suprarenin heftige Dyspnoe auf (160 in der Minute). Es sank zur Seite und machte vergebliche Versuche, sich zu erheben; die Pupillen waren stark erweitert und von träger Reaction. 1 $\frac{1}{2}$  Stunden nach der Injection war die Respirationsfrequenz auf 130 abgesunken; die Athmung erfolgte stossweise; die Pupillen waren enger geworden. Die Athmung wurde immer langsamer und tiefer und 1 St. 55 Min. nach der Injection trat der Tod unter leichtem Opisthotonus ein.

Ein Hund von 6 $\frac{1}{2}$  kg Gewicht erhielt 0.2 g Suprarenin subcutan. wenige Minuten nach der Injection war die Zahl der Herzpulsationen von 120 auf 60 in der Minute abgesunken; die Herzthätigkeit war bedeutend verstärkt, unregelmässig und, wie auscultatorisch festgestellt wurde, von ausgesprochenem Typus bigeminus. Von der Injection an gefangen nahm die Respirationsfrequenz beständig zu; nach 20 Minuten

war sie auf 70, nach 30 Minuten auf 90 Athembzüge in der Minute angestiegen; nach 40 Minuten erreichte die Dyspnoe ihren Höhepunkt (130), gleichzeitig erfolgte Erbrechen; dann nahm die Respirationsfrequenz ab und betrug nach 1½ Stunden wieder 60; die bis dahin anhaltend verlangsamte und arhythmische Herzaction wurde wieder annähernd normal. Das Thier zeigte nach einem Stadium allgemeiner Unruhe Zeichen von Prostration, die bis zu dem 2 Tage später erfolgten Tode anhielt. Von der Injectionsstelle ausgehend hatte sich eine jauchige Infiltration des Unterhautzellgewebes mit Hautemphysem ausgebildet.

Ein höchst auffallendes Vergiftungsbild ergab nachstehender Versuch:

Ein Hund von 7½ kg Gewicht erhielt 0.1 g Suprarenin subcutan. Es zeigten sich keine besonderen Erscheinungen; nur schien das Thier traurig und verweigerte die Nahrung. Am nächsten Tage fand sich an der Injectionsstelle ein zweimarkstückgrosser runder Substanzverlust mit steilen Rändern. Eine weitere Injection von 0.15 g Suprarenin hatte keinen Effect. Einen halben Tag darauf erhielt das Thier 0.2 g Suprarenin subcutan injicirt. Nunmehr entwickelte sich eine von Pulsverlangsamung und Herzarhythmie begleitete heftige Dyspnoe, die nach 15 Minuten ihren Höhepunkt (205 Athembzüge in der Minute) erreichte, um dann langsam wieder abzunehmen. Auf der Höhe der Dyspnoe erfolgte Erbrechen. Nach ½ Stunde hatten Puls und Respiration wieder ihre normale Beschaffenheit angenommen; nun zeigte sich aber bei dem Thiere, das schon vorher Zeichen von Prostration erkennen liess, eine krampfartige Streckung der hinteren Extremitäten, während die vorderen Extremitäten schlaff blieben und die Bewegungen des Kopfes und des Schwanzes unbehindert schienen. Am folgenden Morgen bot das Thier folgendes Bild: es lag auf der Seite; in Pausen von ½—1 Minute erfolgten heftige clonische Zuckungen unter Betheiligung der Extremitäten-, Nacken-, Ohr- und Kaumuskel. Die Pupillen waren weit und reagirten träge; der Cornealreflex war erhalten. Die Patellarreflexe, sowie auch die Periost- und Sehnenreflexe der vorderen Extremitäten waren gesteigert; auch bestand leichter Fussclonus. Die Empfindlichkeit der Haut gegen Nadelstiche war herabgesetzt. Die Krämpfe konnten durch sensible Reize nicht ausgelöst werden. Der Puls war stark verlangsamt (48), klein und arhythmisch, die Temperatur im Rectum auf 25° (°) herabgesunken. Im Laufe des Tages nahm die Häufigkeit und Intensität der Krämpfe ab und 22 Stunden nach der letzten Injection trat der Tod ein. Bei der Section fanden sich hämorrhagische Erosionen im Magen und das Bild einer hämorrhagischen Enteritis im Rectum.

Es würde einer ausgedehnteren Versuchsreihe an Hunden bedürfen, um festzustellen, unter welchen Verhältnissen sich dieser merkwürdige Symptomencomplex, dessen Aehnlichkeit mit dem Bilde der Tetanie nach Schilddrüsenexstirpation beim Hunde auffallend ist, entwickelt.

## V. Wie ist die Wirksamkeit der Abel'schen Epinephrinpräparate zu erklären?

Die ausserordentliche Kleinheit der Suprarenindosen, die dem Gesagten zufolge genügen, um bei intravenöser Application eine kräftige Blutdrucksteigerung herbeizuführen, bietet die Erklärung dafür, dass Abel einen Theil seiner Präparate und zwar die minder gereinigten wirksam fand.

Ich habe bereits oben darauf hingewiesen, dass Epinephrin-Niederschläge, insbesondere wenn sie in concentrirten Suprareninlösungen ausfallen, regelmässig nicht unerhebliche Mengen Suprarenin einschliessen und sich selbst durch andauerndes Waschen nicht immer davon befreien lassen. Es kann demzufolge nicht auffallend erscheinen, dass die, wie Abel ausdrücklich hervorhebt, «rohen» Pikrate des Epinephrins auch in ziemlich kleinen Dosen kräftig blutdrucksteigernd wirkten (S. 329). Uebrigens gibt Abel auf Grund seiner Analysen selbst an, dass das wirksame Pikrat noch mit verschiedenen Substanzen verunreinigt sei.

Anders verhält es sich mit einem etwa 10 Mal wirksameren von Abel dargestellten «Bisulfat». Zur Darstellung dieses Präparates ging Abel nicht vom Pikrinsäure-Niederschlag aus, wie man es bei Prüfung einer durch Pikrinsäure fällbaren Substanz zunächst erwarten würde, sondern vielmehr von dem, wie er angibt, noch überaus wirksamen Filtrate der Pikrinsäurefällung (S. 338). Das Filtrat wurde mit Essigäther ausgeschüttelt und die Essigätherlösung nach Zusatz von alkoholischer Schwefelsäure mit dem 4—6fachen Volumen Aethyläther gefällt (S. 330). Dieses Präparat bewirkte, einem Hunde intravenös injicirt, in einer Menge von 0,000018 g pro Kilogramm Körpergewicht eine Drucksteigerung von 16 mm., in der 5—6fachen Menge, also etwa 0,0001 g pro Kilogramm, eine sehr bedeutende und lang anhaltende Blutdrucksteigerung.

Man kann sich nun leicht davon überzeugen, dass, trotzdem das Suprarenin in reinem trockenen Zustande in Essigäther kaum löslich ist, beim Ausschütteln einer concentrirten sauren Lösung mit Essigäther nicht unerhebliche Mengen Suprarenin



in den wasserhaltigen Essigäther übergehen. Das Suprarenin wird durch Aether leicht aus seinen Lösungen gefällt. Bei dem Vorgehen Abel's musste das aus dem physiologisch sehr wirksamen Pikrinsäure-Filtrat durch Essigäther aufgenommene Suprarenin durch den Zusatz von viel Aether nebst anderen in Aether unlöslichen Substanzen niedergeschlagen werden. Es ist demnach leicht verständlich, dass Abel den Aether-niederschlag, der jedenfalls viel Suprarenin enthielt, kräftig blutdrucksteigernd fand. Was die Wirksamkeit des Präparates betrifft, erinnere ich daran, dass die von mir dargestellte Suprarenin-Eisenverbindung bei einem Hunde bereits in einer Dosis von 0,000017 pro Kilogramm Thier die maximale Gefässwirkung herbeiführte, und dass, wie aus meiner früheren Arbeit<sup>1)</sup> hervorgeht, Mengen von 0,000025 des freien Suprarenins bei Kaninchen den Druck mächtig in die Höhe trieben.

Als Abel dieses «Bisulfat» analysirte, fand er in der That, gegenüber der berechneten Formel des Epinephrin-Bisulfats, ein Deficit von etwa 4% Kohlenstoff, was er durch Aufnahme von  $1\frac{1}{2}$  Molekül Wasser erklärt.<sup>2)</sup>

Das aus dem Pikrinsäure-Niederschlag dargestellte Bisulfat wird gleichfalls als «wirksam» bezeichnet; doch werden keine darauf bezüglichen experimentellen Daten angeführt. Auch in diesem Falle musste bei der Darstellung vom Pikrinsäure-Niederschlag mitgerissenes Suprarenin dem durch Aetherfällung dargestellten Bisulfat anhaften.

Als weitere physiologisch active Präparate werden das Epinephrin-Hydrochlorat und -Hydrobromat angeführt. Dieselben wurden aus der Lösung des wirksamen Pikrats in Essigäther durch Versetzen mit alkoholischer Lösung von Chlor- oder Bromwasserstoffsäure erhalten. Auch die physiologische Wirksamkeit dieser Präparate erklärt sich ungezwungen aus einer Beimengung von Suprarenin, welches eben allen Niederschlägen anhaftet. Ueber die wirksame Minimaldosis dieser Präparate wird nichts mitgetheilt. Dass aber die physiologische

1) l. c. S. 23.

2) Der Stickstoffgehalt wurde nicht bestimmt.

Wirksamkeit keine allzugrosse war, ergibt sich aus dem Umstande, dass ein Kaninchen die intravenöse Injection von 34 mg Epinephrin-Hydrochlorat, ein anderes eine einmalige Injection von 50—60 mg des Salzes vertrug und erst durch eine zweite nachfolgende gleiche Dosis getödtet wurde. (S. 354). Ich sah bei meinen früheren Versuchen<sup>1)</sup> ein Kaninchen nach einer Dosis von 5 mg Suprarenin augenblicklich zu Grunde gehen.

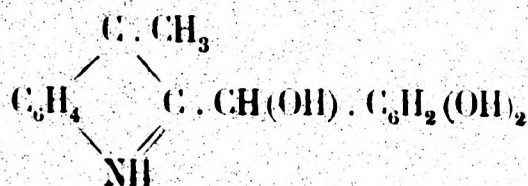
Aus den angeführten Thatsachen ergibt sich also, dass Abel's Epinephrin und die brenzcatechinähnliche Substanz, das Suprarenin, durchaus verschiedene Substanzen sind und dass die blutdrucksteigernde Wirkung nur dem Suprarenin eigenthümlich ist.

Es kann demnach nicht befremden, dass Abel's Analysenzahlen, die ihn zur Aufstellung der Epinephrin-Formel  $C_{17}H_{15}NO_2$ <sup>2)</sup> führten, von meinen analytischen Ergebnissen, die sich auf das Acetylprodukt des Suprarenins beziehen, gänzlich abweichen.

Wie ich seinerzeit hervorgehoben habe, geht aus dem Umstande, dass meine Analysenzahlen innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwankten, hervor, dass ich keine chemisch völlig einheitlichen Präparate in Händen hatte. Wenn ich trotzdem eine, wenn auch nur vorläufige Muthmassung über die chemische Constitution des Suprarenins ausgesprochen habe, so geschah dies nur mit aller Reserve und wesentlich, um dem Bedürfniss zu genügen, die gefundenen chemischen Thatsachen in einen möglichst einfachen Ausdruck zusammenzufassen. Wie wünschenswerth es wäre, bessere Anhaltspunkte zur Beurtheilung der Constitution des Suprarenins zu gewinnen, kann Niemand

1) l. c. S. 21.

2) Die von Abel für das Epinephrin aufgestellte muthmassliche Constitutionformel



ist durch den Nachweis, dass das Epinephrin mit der brenzcatechinähnlichen Substanz, dem Suprarenin, nichts gemein hat, unhaltbar geworden.

lebhafter empfunden haben, als ich. Leider erfüllt Abel's in anderer Richtung interessante Mittheilung diesen Wunsch nicht. Aber es war denkbar, dass sie wenigstens zur Aufklärung meiner schwankenden Analysenresultate beitragen könnte.

Da das Acetylepinephrin der Acetylverbindung des Suprarenins in seinem Verhalten gegen Lösungsmittel ähnlich ist, erschien es nicht ausgeschlossen, dass eine Beimengung von Acetylepinephrin an der mangelhaften Uebereinstimmung der Analysen meiner Acetylprodukte mitschuldig war.

Abel gibt an, dass die Nebennieren nur etwa 0,01% Epinephrin enthalten, während ich die Menge des Suprarenins, wie oben erwähnt, nach der Färbekraft der Eisenreaction auf 0,1–0,17% schätze. Ich habe gefunden, dass ein nach der Zinkmethode dargestelltes Suprareninpräparat, das besonders reich an Epinephrin war, in Wirklichkeit nur 1,2% davon enthielt.<sup>1)</sup> Es ist demzufolge zweifelhaft, ob gerade eine Beimengung von Epinephrin jene analytischen Abweichungen veranlasst hat. Immerhin beabsichtige ich, sobald es mir gelungen sein wird, ausreichendes Versuchsmaterial zu sammeln, epinephrinfreies Suprarenin in Gestalt der Acetylverbindung der Analyse zu unterziehen, sowie auch die quantitativen Versuche auf die oben beschriebenen Suprarenin-Eisenverbindungen auszudehnen.

Strassburg i. Els., Dezember 1899.

---

1) Die sehr concentrirte (25%ige) Lösung wurde mit sehr verdünntem Ammoniak unter sorgfältiger Vermeidung eines Ueberschusses gefällt, der Niederschlag auf einem gewogenen Filter gesammelt, mit wenig Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen. Im Filtrate wurde die Trockensubstanz bestimmt.