Die Tabelle zeigt deutlich, daß die Fehlergrenze der gefundenen Werte in keiner Weise derjenigen der DAB 6 Schmelzpunktbestimmung nachsteht. Wir möchten daher zur Diskussion stellen, die „Bestimmung des Erstarrungspunktes für Fette und fettähnliche Stoffe am rotierenden Thermometer“ in das DAB 7 aufzunehmen⁴⁾. Zu erwähnen ist ferner die Tatsache, daß die Mineralölindustrie als Lieferant für Vaseline und andere Kohlenwasserstoffe diese Methode fast ausschließlich anwendet. Auch aus diesem Grunde wäre eine Aufnahme in das DAB 7 wünschenswert, um dadurch eine genaue, einheitliche und leicht durchführbare Bestimmung zu ermöglichen.

⁴⁾ Bei Abtassung des Manuskriptes erschien eine Veröffentlichung von *Bogs* und *Knepper* die für Vaseline ebenfalls die Aufnahme der Bestimmung des Erstarrungspunktes am rotierenden Thermometer in das DAB 7 vorschlagen (*Pharmazie*, 10, 1 (1955)).

Über die Prüfung des Digitoxins

Von *W. Küssner*, *F. Reiff* und *H. W. Voigtländer*

Aus den Fabriklaboratorien der Firma *E. Merck AG.*, Darmstadt

(Eingegangen am 14. April 1955)

In dem vergangenen Jahrzehnt hat sich in Deutschland eine deutliche Wandlung auf dem Gebiet der Herztherapie vollzogen. Die früher bevorzugten galenischen Digitalis-Präparate mit pharmakologisch eingestelltem Gehalt an chemisch uneinheitlichen Glykosidfraktionen wurden in steigendem Maße durch Reinglykosidpräparate ersetzt. Diese Entwicklung hatte sich in Frankreich durch das „Digitaline Nativelle“ bereits um die Jahrhundertwende vollzogen. Sie wurde in den USA erst durch die klinischen Untersuchungen von *H. Gold*¹⁾ und in Deutschland durch die Arbeiten von *v. Hoesslin*²⁾ eingeleitet. Eine Voraussetzung für die erfolgreiche Einführung des Digitoxins in die neuere Therapie mit ihren verfeinerten diagnostischen Hilfsmitteln war die Bereitstellung reinen Digitoxins von konstanter Zusammensetzung und Wirksamkeit.

Eine sehr große Reinheit ist beim Digitoxin aber nur mit hohem Arbeitsaufwand und großen Ausbeuteverlusten zu erreichen. Die meisten Handelspräparate enthalten daher Verunreinigungen. Die USP. XIV nimmt auf diese Verhältnisse Rücksicht, indem sie formuliert:

„Digitoxin ist entweder reines Digitoxin oder eine Mischung von herzwirksamen Glykosiden, die aus der *Digitalis purpurea* Linné erhalten werden und hauptsächlich aus Digitoxin bestehen.“

Diese Beimischungen des Digitoxins können nativ sein wie Purpureaglykosid A, Purpureaglykosid B, Gitoxin und vermutlich Azetylglykoside*) wie zum Beispiel das Digicorin³⁾

*) Wir haben wiederholt bei der Aufreinigung von Digitoxin, etwa der U.S.P. XIV-Qualität, nach der von *Küssner*⁴⁾ angegebenen Methode beträchtliche Mengen Essigsäure aus den Laugen isoliert, deren Auftreten nur durch die Annahme von Azetylglykosiden auch in *Digitalis purpurea*-Blattglykosiden erklärt werden kann.

¹⁾ *H. Gold*, *J. Amer. med. Assoc.* 136, 1027 (1948).

²⁾ *von Hoesslin*, *Med. Klin.* 3, 62 (1948).

³⁾ *Tamura*, *Kobayashi* und *Tokita*, *Jap. Med. J.* 1, 206 (1948).

Außerdem besteht bei den erwähnten Glykosiden die Möglichkeit, daß im Gange der Isolierung und Reinigung teilweise Veränderungen auftreten, wenn die Behandlung nicht sehr sorgfältig auf ihre Labilität abgestimmt wird. So können unter hydrolysierenden Bedingungen die Genine Digitoxigenin und Gitoxigenin entstehen, durch Wasserabspaltung Anhydroformen und durch Alkalieinwirkung am Laktoring unwirksame Isoglykoside bzw. Isogenine.

Beim Digitoxin muß also eine große Anzahl schwer abtrennbarer und mit den klassischen Prüfverfahren nicht erfaßbarer Verunreinigungen in Betracht gezogen werden. Dieses ist sicher der Grund für die widersprechenden Angaben über die Eigenschaften des reinen Digitoxins in der Literatur. *P. Demoen* und *P. Janssen*⁵⁾ kommen nach ihren ausgezeichneten Untersuchungen sogar zu dem Schluß: „Augenscheinlich besteht die Tatsache, daß die physikalisch-chemischen Eigenschaften von reinem Digitoxin noch weitgehend unbekannt sind.“

Bei dieser scharf formulierten Aussage möchten wir jedoch daran erinnern, daß erst die letzten Jahre entscheidende Fortschritte zur Isolierung und Bestimmung der herzwirksamen Glykoside gebracht haben, wie Trennungen an Adsorptionssäulen, papierchromatographische Identifizierungen und photometrische Auswertungen spezifischer Farbreaktionen. Nach diesen Fortschritten haben sich eben viele früheren Angaben als revisionsbedürftig erwiesen, wie *P. Janssen*⁶⁾ mit einer vergleichenden Zusammenstellung widerspruchsvoller Literaturangaben und Arzneibuchforderungen gezeigt hat.

Besonders die unbefriedigende Lage bezüglich zuverlässiger Prüfungsvorschriften für die pharmazeutische Praxis hat uns veranlaßt, Untersuchungen, die auf folgende Fragen gerichtet sind, durchzuführen:

1. Welches der bekannten spektrophotometrischen und kolorimetrischen Verfahren ist zur Bestimmung der Gesamtcardenolide am brauchbarsten und unter welchen Bedingungen ist es als absolutes Meßverfahren geeignet?
2. Welches photometrische Verfahren ist zur quantitativen Bestimmung von kleinen Mengen Gitoxigenin bzw. Gitoxigeninglykosiden im Digitoxin geeignet?
3. Welche Eigenschaften hat möglichst reines Digitoxin hinsichtlich seiner Stoffkonstanten, wie optischer Drehung, Löslichkeiten und Fließpunkt und wie weit sind diese Konstanten zur Bewertung brauchbar?

Das für unsere Versuche benutzte Digitoxin war an Aluminiumoxyd durch Zerlegung der Säule und Elution mit Chloroform und Chloroform-Methanol chromatographisch gereinigt und erwies sich nach der papierchromatographischen Untersuchung als einheitlich.

Die Elementaranalyse ergab die erwarteten Werte:

$C_{41}H_{64}O_{13}$ (764,96)	Ber.: C 64,38	H 8,43
	Gef.: » 64,3; 64,5	» 8,4; 8,5

⁴⁾ *W. Küssner*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 279, 42 (1941).

⁵⁾ *P. Demoen* und *P. Janssen*, J. Amer. pharmac. Assoc. 42, 635 (1953).

⁶⁾ *P. Janssen*, Drug Standards 21, 177 (1953).

Zur Papierchromatographie benutzten wir die von *Tschesche, Grimmer* und *Seehofer*⁷⁾ angegebene Methode einer „echten Verteilungschromatographie auf Papier“. Bei dem von diesen Autoren beschriebenen absteigenden Verfahren erwies sich die geringe Wanderungsgeschwindigkeit der wäßrigen formamidhaltigen Phase und die durch das Formamid verursachte Durchweichung des Papiers als nachteilig. Es wurde deshalb mit Rundfiltern gearbeitet und die von *O. Töppel*⁸⁾ beschriebene modifizierte Rundfiltertechnik angewandt. An einem Beispiel sei im folgenden die Arbeitsweise beschrieben:

Ein quadratisches Stück *Schleicher & Schüll*-Papier Nr. 2043 b wurde durch Eintauchen in die obere Phase des nach Durchschütteln von 2 Teilen Amylalkohol, 8 Teilen Octylalkohol, 4 Teilen Wasser und 4 Teilen Formamid erhaltenen Lösungsmittelgemisches durchtränkt und danach zwischen Filterpapier abgepreßt. Zuvor wurden auf einem Kreis von etwa 3–4 cm Durchmesser um den Mittelpunkt des Papierstückes in gleichen Abständen je 0,01 ml einer Lösung von Digitoxin, Digoxin und Gitoxin aus einer feinen Pipette aufgetragen.

Diese 0,01 ml enthielten je 20 γ der genannten Substanzen. Die Flecke sollen nicht größer als 1 qcm sein. Das so vorbereitete Filtrierpapier wurde zwischen Deckel (tubuliert) und Unterteil eines Exsikkators gelegt und im übrigen die technische Anordnung von *Töppel* befolgt.

Die Stopfhöhe des Zellulosepropfens betrug 1 cm, die Laufzeit war 23 Stunden, und die Temperatur schwankte zwischen 16° und 20°. Die Lösungsmittelfront hatte nach dieser Zeit etwa 12 cm durchlaufen. Durch 2stündiges Trocknen bei 100° wurden die Lösungsmittel vollkommen aus dem Papier entfernt. (Restlose Entfernung des Formamids ist zur Sichtbarmachung der Flecke unbedingt notwendig.)

Das getrocknete Chromatogramm wurde mit einer frischen Reagenslösung, die man durch Mischen von 10 ml einer 3%igen Chloraminlösung in Wasser und 40 ml einer 25%igen Lösung von Trichloressigsäure in Alkohol erhält, besprüht. (Von allen untersuchten Reagenzien erwies sich dieses von *Jensen*⁹⁾ angegebene am geeignetsten.) Wir trockneten 10 Minuten lang bei 110° und beobachteten die kreisbogenförmigen Flecke unter der U.-V.-Lampe. Digitoxin zeigte ein gelbes Fluoreszenzlicht, während Digoxin stahlblau und Gitoxin sehr intensiv hellblau fluoreszierten.

Die Rf-Werte dieser Substanzen waren für

Digitoxin 0,33, Digoxin 0,75, Gitoxin 0,61.

In einer Reihe von Versuchen wurden diese Werte mit kleinen Abweichungen (etwa $\pm 0,04$) bestätigt.

Die Äquivalentgewichtsbestimmung ergab folgende Werte:

Ber.: 764,9

Gef.: 806; 735; 776

Die Äquivalentgewichtsbestimmung gibt bereits eine brauchbare Aussage über die Verunreinigung sowohl mit Primärglykosiden als auch mit Geninen. Hierfür hat sich folgende Arbeitsweise als geeignet erwiesen:

Etwa 125 mg Digitoxin (genau gewogen) werden in 50 ml reinem Alkohol gelöst und mit 10 ml n/10-NaOH versetzt. Man läßt 20 Stunden lang verschlossen in einem Thermostaten bei 50° stehen, kühlt dann auf Zimmertemperatur ab und titriert den Überschuß an Natronlauge aus einer Mikrobürette mit n/10-Schwefelsäure zurück (Phenolphthalein).

⁷⁾ *Tschesche, Grimmer* und *Seehofer*, Chem. Ber. 86, 1235 (1953).

⁸⁾ *O. Töppel*, Angew. Chem. 66, 555 (1954).

⁹⁾ *Jensen*, Acta pharmacol. toxicol. 9, 101 (1953).

In einer mitlaufenden Blindbestimmung wird der Verbrauch der Reagenzien an n/10-Natronlauge ermittelt und dieser von 10 ml subtrahiert.

$$\text{Äquivalentgewicht} = \frac{\text{Einwaage} \cdot 10000}{\text{ml n/10-NaOH}}$$

Die Fehlerbreite beträgt nach unseren Erfahrungen beim Digitoxin etwa $\pm 6\%$.

1. Von den spektrophotometrischen Verfahren zur Bestimmung der herzwirksamen Glykoside haben wir diejenigen, die auf einer Farbreaktion mit dem Zuckeranteil beruhen wie die Methoden nach *Soos*¹⁰⁾, nach *Reichstein* und *Euw*¹¹⁾ und die Xanthidrolreaktion nach *Tschesche*, *Grimmer* und *Seehofer*⁷⁾ aus analytisch-zweckmäßigen Überlegungen ausgeschlossen und uns auf Reaktionen mit dem pharmakodynamisch wesentlichen Aglucon beschränkt. Da für die direkte Messung des farblosen Digitoxins nur das meßtechnisch sehr ungünstig gelegene Absorptionsmaximum bei etwa 215—220 μ in Frage kommt, so sind eine ganze Anzahl Verfahren zur photometrischen Bestimmung im Sichtbaren vorgeschlagen worden. Diese beruhen überwiegend auf der farbbildenden Reaktion zwischen dem Δ - α - β -Butenolidring der Glykoside und aromatischen Polynitroverbindungen bei Gegenwart von Alkali. Konstitutionell gleichartig ist bei diesen Reagenzien, daß die p-Stellungen mindestens zweier Nitrogruppen unbesetzt sind, daß die Nitrogruppen in m-Stellung zueinander stehen und daß das von ihnen eingeschlossene H-Atom nicht substituiert ist. Die Vorbedingungen für die Farbreaktion am Steroid selbst sieht *Canbäck*¹²⁾ in der Ausbildung einer sehr reaktionsfähigen, aber nur wenig beständigen Carbeniumgruppierung am α -Kohlenstoff des Butenolids unter dem Einfluß von Alkali.

Da wir uns nun die Aufgabe gestellt hatten, die analytischen Bedingungen einer auszuwählenden Methode so festzulegen, daß die Bestimmung ohne Vergleichs- oder Standardsubstanz möglich wird, wurden folgende Reaktionen näher untersucht:

- a) das Verfahren nach *Baljet*¹³⁾ mit 2,4,6-Trinitrophenol,
- b) die Reaktion von *Kedde*¹⁴⁾ mit 3,5-Dinitrobenzoesäure,
- c) die Reaktion nach *Raymond*¹⁵⁾ mit m-Dinitrobenzol und
- d) die Methode von *Warren*, *Howland* und *Green*¹⁶⁾ mit dem Natriumsalz der o-Naphthochinon-4-sulfosäure. Letztere Verbindung benutzte *Feigl* zum Nachweis reaktionsfähiger Methylengruppen, so daß diese Reaktion sicherlich anders gedeutet werden muß als die ersten drei.

Wir haben uns nach sehr eingehenden Untersuchungen und sorgfältigem Abwägen zu der Pikrinsäuremethode nach *Baljet* in der modifizierten Form von *Bell*

¹⁰⁾ *Soos*, *Scientia pharmac.* 16, 1 und 29 (1948).

¹¹⁾ *Reichstein* und *Euw*, *Helv. chim. Acta* 31, 888 (1948).

¹²⁾ *Canbäck*, *Svensk farmac. Tidskr.* 54, 201 (1950).

¹³⁾ *Baljet*, *Schweiz. Apotheker-Ztg.* 56, 71, 89 (1918).

¹⁴⁾ *Kedde*, *Dissertation Leyden* (1946).

¹⁵⁾ *Raymond*, *Analyst* 63, 478 (1938).

¹⁶⁾ *Warren*, *Howland* und *Green*, *J. Amer. pharmac. Assoc.* 37, 186 (1948).

und *Krantz*¹⁷⁾ und *Neuwald*¹⁸⁾ entschlossen, weil die spezifische Extinktion wesentlich höher liegt, was bei gleicher Meßgenauigkeit einen relativ kleineren Fehler bedeutet (Tab. 1).

Tabelle 1

	<i>Baljet</i>	<i>Kedde</i>	<i>Raymond</i>	<i>Warren, Howland u. Green</i>
$[E] \frac{1\%}{1 \text{ cm}}$	231 ± 4	65 ± 2	16 ± 3	33 ± 5

Außerdem wird die gleichmäßige Entwicklung und die zwischen 25 und 35 Minuten praktisch konstant bleibende Extinktion von keinem der anderen Reagenzien erreicht. Eine Ausnahme bildet die Methode von *Warren, Howland* und *Green*, die aber eine sehr schwierig zu handhabende Stabilisierung erfordert.

Wahl der Wellenlänge

Die Messung sollte in der Nähe oder im Maximum einer Absorptionsbande erfolgen, da hier kleine Verschiebungen naturgemäß nur geringen oder keinen Einfluß auf die Größe des Extinktionskoeffizienten ausüben. Die von *Bell* und *Krantz* vorgeschlagene und in die U.S.P. XIV aufgenommene Wellenlänge von 525μ nimmt auf dieses photometrische Prinzip keine Rücksicht. *Neuwald* hat daher eine Korrektur angebracht und mit einem Filter gearbeitet, dessen Schwerpunkt bei 490μ liegt. Auch unsere Messungen bestätigten die Richtigkeit dieser Korrektur. Wir haben mit einem geeichten Quarzspektrometer Unicam Cambridge SP 500 das nicht sehr scharf ausgeprägte Maximum bei $490 \pm 2 \mu$ gefunden.

Wegen der nicht ausreichenden Monochromasie des Lichtes sind absolute Bestimmungen in einem lichtelektrischen Kolorimeter auch in diesem Falle wenig sinnvoll und nicht mit den Werten eines Spektrophotometers vergleichbar. Steht nur ein Kolorimeter zur Verfügung, so ist die vorherige Aufstellung einer Eichkurve erforderlich, oder man muß mit einer Vergleichssubstanz arbeiten. Die „spezifischen Extinktionen“, die wir z. B. im elektrischen Kolorimeter Elko II fanden, stimmten bei mehreren Messungen sehr gut überein, lagen aber etwa 20% unter den Werten des Spektrophotometers.

Temperatur- und Zeitabhängigkeit der Farbreaktion

Da es sich bei der *Baljet*-Reaktion um ein temperaturabhängiges Dissoziationsgleichgewicht eines farbigen Komplexes handelt, so muß die Temperatur genau festgelegt und eingehalten werden, da wir Temperaturkoeffizienten bis zu 1% Genauigkeit pro Grad beobachtet haben. Außerdem liegen über den Temperatureinfluß bei Konzentrationsbestimmungen mit Alkalipikrat bereits sehr genaue Messungen vor (*Kortüm*¹⁹⁾). Danach „genügen Temperaturschwankungen von wenigen Graden, um die an sich erreichbare Genauigkeit der Bestimmung von etwa 100 = (1%) illusorisch zu machen“.

¹⁷⁾ *Bell* und *Krantz*, J. Pharmacol. 83, 213 (1945).

¹⁸⁾ *Neuwald*, J. Amer. pharmac. Assoc. 49, 172 (1950).

¹⁹⁾ *Kortüm*, Kolorimetrie und Spektralphotometrie, Springer-Verlag Berlin, S. 17 (1948).

Es treten bei höherer Temperatur als 20° zwar keine Verschiebungen des Maximums auf, aber die zeitliche Entwicklung desselben ist sehr temperaturabhängig. So haben wir beobachtet, daß die maximale Extinktionshöhe bei 20° nach 30 bis 35 Minuten erreicht wurde, bei 25° und 30° aber bereits vor oder bei 15 Minuten und daß nach der relativ schnellen Ausbildung des Maximums auch ein sehr schneller Abfall eintrat, was in der Weise gedeutet werden kann, daß die Reaktion bei 20° gemäßigter, aber mit Ausbildung einer höheren Extinktion abläuft (Tab. 2).

Tabelle 2

Zeit- und Temperaturabhängigkeit der Maximaextinktion bei der *Baljet*-Reaktion:

	20°	25°	30°
λ max.	490 m μ	488—490 m μ	491 m μ
Maximaextinktion wird erreicht nach . . .	35'	bei etwa 25'	15'
$[E]_{1\text{ cm}}^{1\%}$	230	219	201

In dem zeitlich günstigen und konstanten Ablauf der Farbreaktion liegen die großen Vorteile der Pikrinsäuremethode. Diese Eigenschaften zusammen mit der hohen spezifischen Absorptionskonstante, sind der Grund dafür, daß wir dieser Methode den Vorzug gegeben haben. Nach 35 Minuten nimmt die Extinktion langsam und stetig ab. Eine Verschiebung des Maximums tritt dabei nicht ein. Bei der Reaktion nach *Kedde* erfolgt die Ausbildung in der Regel bei 20° etwa nach 6—8 Minuten und nimmt danach sehr rasch ab.

Prüfung des *Lambert-Beerschen* Gesetzes

Die Frage, ob die Pikrinsäuremethode das *Lambert-Beersche* Gesetz erfüllt, ist schon wiederholt widerspruchsvoll diskutiert worden. Nach unseren Messungen — bei konstantem Produkt $c \cdot d$ und bei verschiedenen Konzentrationen mit gleicher Schichtdicke — ist die Gültigkeit des *Lambert-Beerschen* Gesetzes in der strengen Form, daß die Extinktion eine eindeutige lineare Funktion der Konzentration des zu bestimmenden Stoffes sei, nur in dem Bereich von 2—20 mg % Digitoxin für die bei 490 m μ gelegene Absorptionsbande so hinreichend erfüllt, daß $[E]_{1\text{ cm}}^{1\%}$ selbst konzentrationsunabhängig ist. Die in der Literatur verzeichneten Werte für diese Größe sind also nur unter der Voraussetzung vergleichbar, daß bei annähernd gleichen Konzentrationen gemessen wurde (Tab. 3).

Tabelle 3

Prüfung des *Lambert-Beerschen* Gesetzes für die *Baljet*-Reaktion

c	d	E	$[E]_{1\text{ cm}}^{1\%}$
Digitoxin mg %	cm		
20,0160	0,2	0,922	230,5
10,0080	0,2	0,458	229,0
6,0048	0,2	0,278	232,0
4,0032	1,0	0,933	233,0
2,0016	2,0	0,928	231,5

Einfluß von Alkalität, Pikrinsäurequalität und Pikrinsäurekonzentration des Reagenzes

Diese Faktoren haben einen sehr unterschiedlichen Einfluß auf das Meßverfahren. Naturgemäß hängt die Farbtiefe des komplexen Phenolations wesentlich von dem Verhältnis der Konzentrationen NaOH/Pikrinsäure ab. Es können also nur dann reproduzierbare Werte erwartet werden, wenn dieses Verhältnis bei allen Messungen eingehalten wird. Auf diesen Umstand hat bereits *Newwald*¹⁸⁾ deutlich hingewiesen.

Keine Anmerkung haben wir jedoch aus der Literatur über den Einfluß der Pikrinsäurequalitäten auf die Messung entnehmen können. Dieser Einfluß ist aber sehr beachtlich, denn wir haben durch Qualitätsunterschiede der Pikrinsäure Extinktionsabweichungen bis zu 7% festgestellt. Es ist daher notwendig, für diese absolute Bestimmung nur einwandfreie Pikrinsäure für analytische Zwecke zu verwenden. Wir erinnern daran, daß für die Blutzuckerbestimmung eine für kolorimetrische Zwecke standardisierte Pikrinsäure bereits im Handel ist.

Die nächste Tabelle zeigt, daß man die Konzentrationen der Pikrinsäure und die des Alkohols in der Reagenslösung in weiten Grenzen variieren kann, ohne daß dadurch das Ergebnis verändert wird, allerdings unter der Voraussetzung, daß man die gleiche Änderung auch in der Vergleichslösung vornimmt (Tab. 4).

Tabelle 4

Einfluß von Pikrinsäure-Konzentrationen im *Baljet*-Reagens

Digitoxin (mg %)	d (cm)	E	<i>Baljet</i> -Reagens (ml)	H ₂ O	[E] 1% 1 cm
4,80	1,0	1,111	15	—	231,5
4,80	1,0	1,099	13,5	1,5	229,0
4,80	1,0	1,115	12,0	3,0	232,3
4,80	1,0	1,106	10,5	4,5	230,5
4,80	1,0	1,103	9,0	6,0	229,8
4,80	1,0	1,109	7,5	7,5	231,0

Unter Berücksichtigung der genannten Untersuchungsergebnisse sind wir zu folgender Ausführungsform gekommen:

Ausführung der Bestimmung:

Etwa 100 mg Digitoxin (genau gewogen) werden in 50 ml Methanol in einem Meßkolben gelöst = Stammlösung.

10 ml dieser Stammlösung werden 1 : 10 mit Methanol verdünnt = Digitoxinlösung.

1,80 g Pikrinsäure (pro anal.) werden in einem 100-ml-Meßkolben in 50 ml Äthanol (96% Vol.) und 20—30 ml Wasser gelöst. Dann werden 12,5 ml n/1-Natronlauge hinzugegeben und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt = *Baljet*-Reagens.

5 ml der Digitoxinlösung werden in einem 25-ml-Meßkolben mit 15 ml *Baljet*-Reagens versetzt und mit Methanol aufgefüllt = Meßlösung.

15 ml *Baljet*-Reagens werden in einem 25-ml-Meßkolben mit Methanol aufgefüllt = Vergleichslösung.

Die Meß- und Vergleichslösungen müssen eine Temperatur von $20^{\circ} \pm 0,5$ haben, die auch möglichst während der Messung eingehalten werden soll.

20 Minuten nach der Mischung wird die Absorption der Meßlösung in 1-cm-Küvetten bei $490 \text{ m}\mu$ gegen die Vergleichslösung bestimmt. Diese Messung wird nach 5 und 10 Minuten wiederholt. Die höchsten Extinktionswerte werden der Berechnung zugrunde gelegt. Die spezifische Extinktionskonstante beträgt $[E]_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 231 \pm 4$.

Bei guten Digitoxinen des Handels haben wir niedrigere Werte gefunden:

$$[E]_{1 \text{ cm}}^{1\%} \approx 220$$

Diese Bestimmung erfaßt nur die herzwirksamen Steroid-Verbindungen mit ungesättigtem Laktonring. Hierbei werden Verbindungen mit gesättigtem Laktonring, die als unwirksame Verunreinigungen angesehen werden müssen, ausgeschlossen. Diese Verunreinigungen können teils aus pflanzlichem Material selbst, wie die Steroidsaponine Digitonin, Tigogenin usw., stammen, oder aber bei der Isolierung entstanden sein, wie Isoglykoside und Isoaglukone. Alle diese Verbindungen geben mit Pikrinsäure keine Farbreaktionen. In quantitativer Beziehung können durch die obere Begrenzung des Wertes wesentliche Anteile von Aglukonen erkannt werden. Diese sollten entsprechend der Theorie etwas mehr als den doppelten spezifischen Extinktionskoeffizienten haben. Gemessen wurde für Digitoxigenin $[E]_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 448 \pm 6$. Entsprechend könnte eine bedeutend niedrigere Extinktion auf die Anwesenheit genuiner, zuckerreicherer Glykoside zurückgeführt werden.

Die Methode allein vermag natürlich nicht von den Laktonringverbindungen analoger Abbaustufen, z. B. Gitoxin, zu unterscheiden, da bei annähernd gleichem Molgewicht die molaren Extinktionen in den Bereich der meßtechnisch begrenzten Fehlerbreite fallen. Man kann die Anwesenheit der Gitoxingenglykoside aber durch andere Methoden erfassen, von denen im folgenden die Rede sein wird. Wenn also der spezifische Extinktionskoeffizient der Molekülverbindung Digitoxin-Pikrinsäure bei Einhaltung der hier beschriebenen experimentellen Voraussetzungen mit einer Genauigkeit von etwa 2% bestimmt werden kann, so sind wir überzeugt, daß die Bestimmung hinreichend genau und spezifisch ist und einen Fortschritt gegenüber den bisher üblichen, relativen Methoden darstellt, die an den Vergleich mit schwer beschaffbaren, nicht vollkommen konstanten Standardpräparaten gebunden sind.

2. Von großer Wichtigkeit ist aus folgenden Gründen die Kenntnis des Gitoxin-gehaltes des Digitoxins.

Die Glykoside der B-Reihe, insbesondere das dem Digitoxin analoge Gitoxin, sind eine in allen Handelspräparaten mehr oder weniger auftretende Verunreinigung^{20, 21}. Eine Begrenzung ist hier jedoch erforderlich, nachdem von *R. Hotovy*²²

²⁰) *Pesez*, *Ann. pharmac.* 8, 746 (1950).

²¹) *Fruyrier* und *van Pinxteren*, *Pharmac. Weekbl.* 89, 99 (1954).

²²) *Hotovy*, *Arzneimittel-Forsch.* 1, 160 (1951).

nachgewiesen und von *U. Hackenberg*²³⁾ bestätigt worden ist, daß Gitoxin bei der üblichen peroralen Verabreichungsart infolge hoher Resorptionsverluste im Verdauungskanal praktisch unwirksam ist.

Von den bekannten Gitoxinbestimmungsmethoden wurde von uns zunächst die nach *Mc. Chesney, Nachod, Auerbach* und *Laquer*²⁴⁾ benutzt. Ihr liegt die kolorimetrische Auswertung der Rotfärbung, die Gitoxigenin mit konzentrierter Schwefelsäure liefert, zugrunde. Nach den genannten Autoren geht man so vor, daß man das Glykosidgemisch zuerst entzuckert, die Genine aus der hydrolysierten Lösung mit Chloroform ausschüttelt und in konzentrierter Schwefelsäure löst. Die Rotfärbung wird nach 24 Stunden in einem photoelektrischen Kolorimeter unter Verwendung des Farbfilters S 53 gemessen. Beim Absorptionsmaximum (525 m μ) besitzt jedoch auch Digitoxigenin eine Absorption, die nach *Mc. Chesney* etwa $\frac{1}{5}$ bis $\frac{1}{7}$ derjenigen des Gitoxigenins entspricht. Beim Ausschütteln der hydrolysierten Lösung nach der Glykosidspaltung gelangen immer kleine Mengen Digitoxose in die Chloroformlösung der Genine, die nach Auflösung der Chloroformrückstände in konzentrierter Schwefelsäure eine mehr oder weniger starke Braunfärbung bewirken.

Trägt man die bei einer Meßreihe mit abgestuftem Gitoxingehalt gefundenen Extinktionswerte gegen den Gitoxingehalt auf, so erhält man zwar eine Gerade. Bei Wiederholung ist dieselbe jedoch stets parallel verschoben.

Aus den angeführten Gründen halten wir die Methode zur Erkennung kleiner Gitoxinmengen im Digitoxin für ungeeignet.

Behandelt man Gitoxigenin mit wasserabspaltenden Reagenzien, so entsteht unter Verlust von 2 Molekülen Wasser das Dianhydrogitoxigenin. Diese Substanz besitzt infolge ihrer drei konjugierten Doppelbindungen ein Absorptionsmaximum bei der für Messungen leicht zugänglichen Wellenlänge von 338 m μ .

Unter den gleichen wasserabspaltenden Bedingungen geht Digitoxigenin in ein Gemisch von α - und β -Anhydrodigitoxigenin über. In diesen isomeren Substanzen sind die beiden Doppelbindungen isoliert, was sich im Fehlen einer Absorption bei der genannten Wellenlänge äußert.

Diese bekannten Tatsachen lassen sich für eine Bestimmung der Digitalisglykoside der B-Reihe neben solchen der A-Reihe ausnutzen, wozu man aus den Glykosiden die Genine quantitativ zu isolieren und zu anhydrieren hat.

Angaben über die Extinktion von Dianhydrogitoxigenin wurden schon von *Reichstein*²⁵⁾ sowie von *Tschesche, Grimmer* und *Neuwald*²⁶⁾ gemacht. *Reichstein* gibt einen log E-Wert von 4,31 an, was einem Extinktionskoeffizienten $[E]_{1\text{ cm}}^{1\%}$ von 577 entspricht. Demgegenüber rechnen *Tschesche, Grimmer* und *Neuwald* mit $\log E = 4,24$, was einen $[E]_{1\text{ cm}}^{1\%}$ -Wert von 490 bedeutet. Für unsere Versuche

²³⁾ *Hackenberg*, Arzneimittel-Forsch. 3, 549 (1953).

²⁴⁾ *Mc. Chesney, Nachod, Auerbach* und *Laquer*, J. Amer. pharmac. Assoc. 27, 364 (1948).

²⁵⁾ *Reichstein*, Helv. chim. Acta 35, 444 (1952).

²⁶⁾ *Tschesche, Grimmer* und *Neuwald*, Chem. Ber. 85, 1103 (1952).

stellten wir uns nach der Vorschrift von *Windaus*²⁷⁾ reines Dianhydrogitoxigenin her. Nach mehrmaligem Umkristallisieren besaß es eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{23} = +599^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,73$ in Methanol) und einen Schmelzpunkt von $217\text{--}218^\circ$ (unkorr.). Die mit diesem Dianhydrogitoxigenin vorgenommenen Extinktionsmessungen in Methanol ergaben in einem Konzentrationsbereich von $0,1 \text{ mg } \% \text{ bis } 2 \text{ mg } \%$ einen Extinktionskoeffizienten $[E]_{1 \text{ cm}}^{1\%}$ von 612 ± 12 für Dianhydrogitoxigenin, entsprechend 556 ± 12 für Gitoxigenin und 278 ± 6 berechnet für Gitoxin.

An Stelle von Dianhydrogitoxigenin-Lösungen wurden nun Lösungen der entsprechenden Mengen Gitoxigenin in Methanol nach Anhydrierung durch einstündiges Behandeln mit konz. Salzsäure bei $338 \text{ m}\mu$ gemessen. Der jetzt für Gitoxigenin erhaltene Extinktionskoeffizient betrug $[E]_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 535 \pm 11$. Er liegt somit etwas tiefer als der an reinem Dianhydrogitoxigenin gefundene, was wahrscheinlich an der größeren Reinheit des Dianhydrogitoxigenins liegt.

Die nachfolgende Tabelle gibt die dabei gefundenen Werte wieder (Tab. 5).

Tabelle 5

mg Digitoxigenin/ 100 ml Lösg.	mg Gitoxigenin/ 100 ml	Schichtdicke d	E	$[E]_{1 \text{ cm}}^{1\%}$ für Gitoxigenin
40	—	1 cm	0,037	—
39,6	0,4	1 cm	0,244	520
39,2	0,8	1 cm	0,462	531
38,8	1,2	1 cm	0,683	540
38,4	1,6	1 cm	0,899	540
38	2	1 cm	1,127	545

Diese Messungen bildeten die Grundlage für die nachfolgend beschriebene Arbeitsweise zur Bestimmung des Gitoxingehaltes im Digitoxin.

Durch Einwirkung von Eisessig und 2 n-Schwefelsäure wurden aus den Glykosiden die Zucker abgespalten und die Genine nach vorsichtiger Neutralisation der hydrolysierten Lösung mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Die Trockenrückstände der Geninlösung wurden mit konzentrierter Salzsäure anhydriert, in Methanol aufgenommen und die Extinktion der Lösungen gemessen. Im einzelnen verfahren wir bei dieser von uns als „Genin-Methode“ bezeichneten Arbeitsweise folgendermaßen:

Etwa 100 mg wasserfreies Digitoxin (genau gewogen) werden in genau 2 ml Eisessig (Meßpipette) in einem 250-ml-Schliff-Erlenmeyer-Kolben gelöst und mit 5 ml 2n-Schwefelsäure versetzt. Man läßt 4 Stunden bei etwa 20° stehen und verdünnt darauf mit 5 ml Wasser. Nach weiterem 18stündigem Stehen bei $10\text{--}15^\circ$ wird mit einer etwa 10%igen Sodalösung, welche die zur Neutralisation theoretisch notwendige Menge Soda (etwa 50 ml)

²⁷⁾ *Windaus*, Chem. Ber. 58, 1518 (1925).

enthält, vorsichtig neutralisiert. Das Genin fällt dabei kristallin aus. Man spült jetzt mit 25 ml Methylenchlorid in einem 250 ml fassenden Scheidetrichter und gibt in den Trichter noch 30 ml Wasser. Die wäßrige Phase wird mit dem Methylenchlorid kräftig durchgeschüttelt und die Schüttelung unter Nachspülen des Neutralisationskolbens noch 3mal mit je 25 ml Methylenchlorid wiederholt. Die vereinigten Methylenchloridphasen werden zur Entfernung von eingeschleppter Digitoxose 3mal mit je 25 ml Wasser ausgeschüttelt und die vereinigten wäßrigen Phasen nochmals 3mal mit je 25 ml Methylenchlorid. Die beiden Methylenchloridlösungen werden vereinigt und auf dem Dampfbad vorsichtig zur Trockne eingedampft, und der Rückstand bei 100° 1 Stunde getrocknet. Wegen der Gefahr des Verspritzens ist es vorteilhafter, das Eindampfen der Methylenchloridlösungen so vorzunehmen, daß man die mit einem Uhrglas locker bedeckte Glasschale über Nacht bei etwa 25—30° stehen läßt.

Der Rückstand wird mit 1,25 ml Salzsäure (1,19) versetzt, mit einem Uhrglas bedeckt und unter gelegentlichem Umschwenken 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Er darf sich dabei gelbbraun bis graubraun, aber nicht dunkelbraun bis schwarz färben. Nach einer Stunde löst man in Methanol p. a. und füllt mit diesem Lösungsmittel im Meßkolben auf 50 ml auf. Von dieser Lösung entnimmt man 10 ml und bringt diese mit Methanol p. a. auf 25 ml. Die Extinktion dieser Lösung bei 338 μ wird gemessen. Bei der Berechnung des Gitoxingehaltes ist zu beachten, daß man davon noch die Extinktion des anhydrierten Digitoxigenins zu subtrahieren hat, die für 10 mg anhydriertes Digitoxigenin 0,037 beträgt (siehe Tab. 5).

Diese Korrektur spielt jedoch nur eine untergeordnete Rolle. Der Prozentgehalt an Gitoxin beträgt dann

$$\frac{(\text{Extinktion d. Meßlösg.} - 0,037) \cdot 100}{278 \cdot d \cdot \frac{\text{Einwaage (g)}}{5}}$$

Auf Grund der Abweichungen der Extinktionswerte bei einer Reihe von Bestimmungen ist mit einem relativen Fehler von $\pm 10\%$ zu rechnen.

In einer Arbeit über die fluormetrische Bestimmung von Gitoxigenin in einer Lösung von Glycerin und Salzsäure gibt *Jensen*²⁸⁾ an, daß das Absorptionsmaximum einer solchen Lösung bei 350 μ liegt. Diese Angabe wurde von uns bestätigt und zur Grundlage einer einfachen Gitoxinbestimmung gemacht, wobei wir die hierbei erhaltenen Gitoxinwerte nach der vorstehend beschriebenen „Genin-Methode“ überprüfen konnten. Bei der qualitativen Aufnahme des Absorptionsspektrums von Dianhydrogitoxigenin in einer Mischung von gleichen Gewichtsteilen Glycerin und Salzsäure (1,19) fanden wir das Maximum bei 352 μ im Gegensatz zu 338 μ in salzsäurehaltigem Methanol. Nachstehende Tabelle 6 zeigt die

Tabelle 6

Dianhydrogitoxigenin	Schichtdicke d	E	[E] _{1 cm} ^{1%}
0,0908 mg/25 ml Glyc./HCl	1 cm	0,222	611
0,0726 mg/25 ml Glyc./HCl	1 cm	0,173	595
0,0545 mg/25 ml Glyc./HCl	1 cm	0,130	597
0,0363 mg/25 ml Glyc./HCl	1 cm	0,083	572
0,0182 mg/25 ml Glyc./HCl	1 cm	0,042	577

²⁸⁾ *Jensen*, Acta pharmacol. toxicol. 8, 105 (1952).

bei verschiedenen Konzentration von Dianhydrogitoxigenin in einer Mischung von Glycerin und Salzsäure gemessenen Extinktionen und die daraus berechneten Extinktionskoeffizienten.

Der für Gitoxin berechnete Extinktionskoeffizient $[E]_{1\text{cm}}^{1\%}$ ist mit 268 ± 10 nahezu der gleiche wie in salzsäurehaltigem Methanol.

Wir haben nun die an der Dianhydroverbindung geübte Arbeitsweise direkt auf die Glykoside übertragen.

Die Anwesenheit von Digitoxose bedingt eine bei längerem Stehen stärker werdende Grünfärbung der Meßlösung, die durch zusätzliche Absorption Überwerte verursachen kann. Nach unseren, durch Vergleich mit den Gitoxinwerten, die wir nach der „Geninmethode“ erhalten haben, gemachten Erfahrungen genügt jedoch die bei diesen Messungen erzielbare Genauigkeit zur Beurteilung von Digitoxin bezüglich seines Gitoxingehaltes durchaus. Diese im folgenden als „Glykosidmethode“ bezeichnete Arbeitsweise verdient für die Praxis infolge ihrer einfachen Handhabung den Vorzug vor der „Geninmethode“. Wir haben sie folgendermaßen durchgeführt:

Etwa 100 mg wasserfreies Digitoxin (genau gewogen) werden in einem 25-ml-Meßkölbchen in Methanol gelöst und das Kölbchen zur Marke aufgefüllt. Aus dieser Lösung wird 1 ml entnommen, in einem zweiten 25-ml-Meßkolben pipettiert und dieser mit einer Mischung aus gleichen Teilen Salzsäure (1,19) und Glycerin anhydr. bidestillat. zur Marke aufgefüllt. Nach einstündigem Stehen bei einer Raumtemperatur wird in einem Spektrophotometer die Extinktion bei $352\ \mu$ gemessen. Der Extinktionskoeffizient $[E]_{1\text{cm}}^{1\%}$ für Gitoxin beträgt 268.

Arbeitet man unter den angegebenen Bedingungen, so ist für das Digitoxin kein Blindwert anzusetzen, wie Messungen mit den entsprechenden Mengen Digitoxigenin und Digitoxose ergeben haben. Der Prozentgehalt an Gitoxin beträgt dann:

$$\frac{\text{abgelesene Extinktion} \cdot 100}{268 \cdot 4 \cdot d \cdot \frac{\text{Einwaage (g)}}{25}}$$

Eine weitere Möglichkeit den Gitoxinanteil im Digitoxin zu bestimmen, bildet eine fluorometrische Messung nach *Pesetz*²⁰). Wie bereits erwähnt, bildet Gitoxin unter dem anhydrierenden Einfluß von Mineralsäuren, in diesem Falle von Phosphorsäure, Dianhydrogitoxigenin, das im ultravioletten Licht eine grünblaue Fluoreszenz zeigt, die sich mit Hydrazin stabilisieren läßt. Wir haben diese Fluoreszenz nicht photometrisch gemessen, sondern sie unter der Analysen-Quarzlampe mit bloßem Auge gegen Lösungen mit bekanntem und abgestuftem Gehalt an Dianhydrogitoxigenin verglichen. Zur Bestimmung der Beimengungen an Gitoxin haben wir uns in dem für diese Vergleiche günstigen Bereich von 0—5% gehalten und mit 10 Lösungen gearbeitet, die 2,5 bis 25 γ Gitoxin oder $2,5 \cdot 0,454$ bis $25 \cdot 0,454\ \gamma$ Dianhydrogitoxigenin in gleichen Abständen pro 11 ml Reagenslösung enthielten. In diese Reihe abgestufter Fluoreszenzlösungen ordneten wir eine Lösung von 500 γ Digitoxin in 11 ml Reagenslösung ein. Nach einiger Übung ließ sich der Gitoxinanteil innerhalb dieser angegebenen Abstufungen erkennen. Natürlicherweise unter-

liegen diese Ermittlungen jedoch stärkeren subjektiven Fehlern, als bei den photometrischen Methoden.

Tabelle 7

Bestimmungen des Gitoxingehaltes

	„Genin- Methode“	„Glykosid- Methode“	Methode <i>Pesez</i>
1. Digitoxin, Laborpräparat	0,6% ± 0,1	0,5% ± 0,1	≈ 0,4% ± 0,2
2. Digitoxin puriss.	2,0% ± 0,2	2,2% ± 0,2	≈ 1,7% ± 0,3
3. Digitoxin puriss.	2,1% ± 0,2	2,2% ± 0,2	≈ 1,9% ± 0,3
4. Digitoxin, Handelspräparat	14,3% ± 1,5	14,5% ± 1,5	≈ 12,5% ± 2,5
5. Digitoxin, Handelspräparat	23,0% ± 2,5	24,2% ± 2,5	≈ 18,0% ± 5

3. Zur Ermittlung der Stoffkonstanten wurde das vorher beschriebene Digitoxin benutzt, das nach den angegebenen Methoden $100 \pm 2\%$ Cardenolidglykoside, berechnet auf Digitoxin und weniger als 0,3% Gitoxigeninglykoside, berechnet auf Gitoxin, enthielt.

Zur Ermittlung der optischen Drehung haben wir das hierfür meist benutzte Lösungsmittel gewählt, nämlich Chloroform. Chloroform DAB. 6 wurde vor Gebrauch mehrmals mit Wasser gewaschen und 12 Stunden über CaCl_2 getrocknet. Danach wurde über eine *Widmer*-Kolonne von 17,5 cm Länge destilliert. Die zwischen $61-61,2^\circ$ übergehende Fraktion diente als Lösungsmittel. Das Digitoxin war zuvor bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet worden.

$$[\alpha]_D^{20} = + 16,7 \pm 0,5 \quad (c = 1; 2 \text{ dcm})$$

Wird an Stelle des reinen Chloroform die DAB. 6-Qualität verwendet, so bewirkt der geringe Zusatz des stabilisierenden Alkohols eine geringfügige Erhöhung der Drehung

$$[\alpha]_D^{20} = + 17,5 \pm 0,5 \quad (c = 1; 2 \text{ dcm}).$$

Als Forderung, die an die Handelspräparate zu stellen wären, würden wir für eine chloroformische Lösung 1 : 100 einen Drehbereich von $[\alpha]_D^{20} = + 17^\circ \pm 1,5$ vorschlagen. Diese Konstante reicht aber zur Wertbeurteilung keinesfalls aus. Ebenso kann man dem Schmelzpunkt nur eine geringe Bedeutung als Reinheitskriterium beimessen, zumal er außer von der Dauer der Vorerhitzung auch abhängig ist von dem Lösungsmittel, aus welchem das Präparat umkristallisiert wurde. So kann man z. B. bei einem Präparat mit 10% Verunreinigung an Gitoxin den gleichen Fp. finden wie bei praktisch reinem Digitoxin. Wir fanden im Kupferblock nach den Anheizbedingungen des DAB. 6 folgende Werte:

Die Substanz wurde bei 235° eingelegt und die Temperatursteigerung betrug $2^\circ/\text{Minute}$. Zwischen 249° und 251° (korrigiert) zersetzte sich Digitoxin unter Verfärbung und Aufblähung (Kristallisation aus Äthanol). Bringt man die Substanz auf eine angeheizte *Kofler*-Bank, so erhält man Schmelzpunkte, die in der Regel 20° höher liegen und damit etwa den Angaben der französischen Autoren über den „point de fusion instantanée“ entsprechen.

Die Löslichkeit des Digitoxins ist ein brauchbares Kriterium für seine Reinheit, worauf bereits *Stoll*²⁹⁾ hingewiesen hat. Voraussetzung hierfür ist jedoch, daß die Lösungsmittel sehr rein sind und das Digitoxin vollkommen trocken ist. Es zeigte sich, daß die Chloroformlöslichkeit sehr vom Gehalt an Gitoxigenin-glykosiden abhängig ist. So verbessern z. B. einige Tausendstel Molprozent Gitoxin die Löslichkeit in Chloroform wesentlich, obwohl Gitoxin selbst unvergleichlich schwerer in CHCl_3 löslich ist. Die partiellen Löslichkeiten unterscheiden sich also wesentlich von denen der reinen Glykoside. Digitoxin mit einem Gehalt von 0,6% Gitoxin löste sich bei 20° zu etwa 1 : 67, bei einem Gehalt von < 0,3% Gitoxin aber nur 1 : 75 bis 1 : 76. Präparate mit mehr als 10% Gitoxin lösten sich besser als 1 : 35 in reinem Chloroform.

Wir möchten an dieser Stelle besonders darauf hinweisen, daß geringe Mengen Äthanol, wie sie zur Stabilisierung dem Chloroform allgemein hinzugefügt werden, oder auch nur ein geringer Wassergehalt die Löslichkeit sehr beeinflussen. So zeigte ein Digitoxin mit einem Gitoxingehalt von 2,3% bei 20° folgende Löslichkeiten in verschiedenen Chloroformmischungen (Tab. 8):

Tabelle 8

In reinem, wasserfreien Chloroform ohne Äthanol	1 : 62
In reinem, wasserfreien Chloroform + 0,5% Äthanol	1 : 31
In reinem, wasserfreien Chloroform + 1,0% Äthanol	1 : 21
In reinem, wasserfreien Chloroform + 1,5% Äthanol	1 : 20
In reinem, wassergesättigten Chloroform ohne Äthanol	1 : 48
In reinem, wassergesättigten Chloroform + 0,5% Äthanol	1 : 25
In reinem, wassergesättigten Chloroform + 1 % Äthanol	1 : 20
In reinem, wassergesättigten Chloroform + 1,5% Äthanol	1 : 20

Diese Verhältnisse dürften manche Unstimmigkeiten in den bisherigen Löslichkeitsangaben aufklären.

Die Löslichkeit unseres reinen Digitoxins mit < 0,3% Gitoxin betrug bei 20° in absolutem Methanol 1 : 63, in absolutem Äthanol 1 : 112.

Zusammenfassend möchten wir sagen, daß die Löslichkeitsangaben zur Beurteilung sehr reinen Digitoxins für wissenschaftliche Zwecke zwar wertvoll sind, daß sie für die Beurteilung von handelsüblichen Präparaten aber wenig geeignet sind, da hier aus wirtschaftlichen Gründen ein geringes, begrenztes Maß an Nebenglykosiden gestattet werden muß.

Zusammenfassung

Im jüngsten Schrifttum^{5, 6)} ist gezeigt worden, daß die stofflichen Eigenschaften des Digitoxins noch aufklärungsbedürftig sind. Hierzu wird durch diesbezügliche Untersuchungen und durch Beschreibungen von Bestimmungsmethoden ein Beitrag geleistet. Diese sind für praktische Prüfungsverfahren geeignet und ermöglichen es, eine sichere Bewertung des Digitoxins direkt nach seinen stofflichen

²⁹⁾ *Stoll* und *Kreis*, *Helv. chim. Acta* 35, 1323 (1952).

Eigenschaften mit chemisch-physikalischen Methoden vorzunehmen. Damit sind die Voraussetzungen erfüllt für die Loslösung von tierexperimentellen Prüfungen und vom Gebrauch von Digitoxin-Standardsubstanzen, wie sie beispielsweise noch von der U.S.P. XIV vorgeschrieben werden.

BUCHBESPRECHUNGEN

Einführung in die Ultrarotspektroskopie von *Werner Brügel*. Wissenschaftliche Forschungsberichte, naturwissenschaftliche Reihe Band 62, Verlag von Dr. Dietrich Steinkopff: Darmstadt 1954. XII, 366 S., 140 Abb., geb. DM 49,—.

Mit der Entwicklung registrierender Ultrarotspektrometer hat die Ultrarotspektroskopie in den letzten Jahren eine so stürmische Entwicklung genommen, daß sie schnell ein breites Anwendungsfeld gefunden hat. Besonders die organische Chemie kann heute kaum noch ohne Ultrarotspektroskopie auskommen. Umso spürbarer macht sich bei dieser Entwicklung der Mangel an geeigneter deutschsprachiger Fachliteratur bemerkbar.

Mit dem Erscheinen der Monographie von *Werner Brügel* liegt nun ein Buch vor, das von allen an der Ultrarotspektroskopie Interessierten begrüßt werden dürfte. Da bisher ein umfassendes Werk noch nicht vorlag, war der Verfasser darum bemüht, die wichtigsten Punkte in den Vordergrund zu stellen. Aus diesem Vorhaben resultiert die viergliedrige Aufteilung des Buches: Teil I behandelt in einer kurzen Zusammenfassung die theoretischen Grundlagen der ultraroten Spektren. Hierbei folgt der Verfasser der ausgezeichneten Darstellung von *Herzberg*. Der theoretisch interessierte Leser wird deshalb hier die Kürze nicht empfinden, da damit wesentlicher Raum für die anderen Teile gewonnen wurde. Teil II behandelt alle apparativen und technischen Fragen, wobei auch besonders die kommerziellen Ultrarotspektrometer nebst ihrem Zubehör behandelt werden. Daneben werden Strahlungsquellen, Monochromatoren, Strahlungsempfänger u. dgl. einschließlich Hinweisen zur Präparation der Proben besprochen.

Im dritten Teil werden Methoden der praktischen Ultrarotspektroskopie dargestellt, wobei die charakteristischen Banden zur chemischen Konstitutionsaufklärung im wesentlichen nur an Abbildungen und Tabellen besprochen werden können und einen kurzen aber trotzdem umfassenden Überblick bieten. Intensitätsmessung, qualitative und quantitative Analyse sowie Reflexions- und Polarisationsmessungen bilden den weiteren Inhalt dieses Teiles.

Der vierte Teil enthält Ergebnisse und Anwendungen der Ultrarotspektroskopie, wobei gemäß ihrer Bedeutung organische Verbindungen einen breiten Raum einnehmen. Hiernach geht der Verfasser noch auf die Spektren von Hochpolymeren und anorganischen Verbindungen ein. Zum Schluß dieses Teiles wird auf einige speziellere Anwendungen, wie z. B. Wasserstoffbrücke, Rotationsisomerie u. dgl. hingewiesen.

Ergänzt wird der Inhalt der beiden letzten Teile durch ein sorgfältig zusammengestelltes Literaturverzeichnis, das die wichtigsten, bis Ende 1953 erschienenen Arbeiten zitiert und besonders wertvoll wird durch die Angabe der in der zitierten Arbeit behandelten chemischen Verbindungen.

H. H. Perkampus

Rutin and Related Flavonoids. Chemistry-Pharmacology-Clinical Applications von *John Q. Griffith, Jr. M. D., Charles F. Krewson, Ph. D., and Joseph Naghski, Ph. D.* Mack Publishing Company-Easton Pennsylvania 1955. 275 S. mit 38 Tab. und 44 zum Teil farbigen Abb. Price \$ 7,50.

Es spricht mit für den therapeutischen Wert eines Arzneimittels, wenn in allen Ländern seine industrielle Herstellung durchgeführt und es zur Aufnahme in die nationalen Pharmakopöen vorgeschlagen wird. Fünfzehn Jahre biochemische und pharmakologische For-