

Stoffwechsel von Derivaten des Helveticosids und Helveticosols*

F. KAISER und W. SCHAUMANN

Chemische und Medizinische Forschung Boehringer Mannheim GmbH

Eingegangen am 19. September 1968

Metabolism of Helveticoside and Helveticosol Derivatives

Summary. In vitro studies of the metabolism of esters, ethers and ketals of helveticoside and helveticosol were made with preparations of human, guinea pig and cat intestine, liver and kidney and with human serum and whole blood. Investigations in vivo were made with preparations of the small intestine of the guinea pig.

1. Diacyl derivatives were predominantly metabolised to 3'-mono-acylderivatives. The enzymatic activities of the human and guinea pig preparations were of the same order of magnitude and higher than those from cat organs. Acetyl groups were split off more slowly than other acylgroups. Helveticosol derivatives esterified at the C-atom 19 of the aglycone were hydrolysed only by guinea pig preparations. While guinea pig and human preparations deacylated 4'-mono-acyl derivatives mainly to helveticoside, cat preparations were found to transform the compounds mainly to 3'-mono-acyl-derivatives. Human serum and whole blood hardly hydrolysed any of the diesters.

2. In all in vitro and in vivo studies, diethers and ketals were only metabolized to a very small extent.

Key-Words: Cardiac Glycosides — Helveticoside Derivatives — Metabolism.

Zusammenfassung. Der Metabolismus von Estern, Äthern und Ketalen des Helveticosids und Helveticosols wurde an Darm-, Leber- und Nierenpräparaten von Mensch, Meerschweinchen und Katze und mit menschlichem Serum und Vollblut in vitro, außerdem mit Meerschweinchendünndarm in vivo geprüft.

1. Diacyl-Derivate wurden überwiegend zu 3'-Monoacyl-Derivaten gespalten. Die Enzymaktivitäten der Präparate von Mensch und Meerschweinchen lagen in gleicher Größenordnung und waren höher als bei der Katze. Acetylgruppen wurden am langsamsten abgespalten. Am C-Atom 19 des Aglykons veresterte Helveticosol-Derivate wurden nur von Meerschweinchenpräparaten gespalten. 4'-Monoacyl-Derivate wurden durch Organpräparate von Mensch und Meerschweinchen überwiegend zu Helveticosid entacyliert, während bei der Katze mehr eine Umacylierung zu 3'-Acyl-Derivat vorherrschte. Menschliches Serum und Vollblut spaltete Diester kaum.

2. Diäther und Ketale wurden bei sämtlichen Versuchen in vitro und vivo nur in ganz geringem Ausmaß metabolisiert.

Schlüsselwörter: Herzglykoside — Helveticosid-Derivate — Metabolismus.

* Herrn Prof. Dr. L. LENDLE zum 70. Geburtstag gewidmet.

In der vorangegangenen Arbeit (SCHAUMANN u. WEGERLE) wurde über die Verbesserung der Resorption von Helveticosid-Derivaten mit verschlossenen Hydroxylgruppen am Digitoxoserest berichtet. Bei der enteralen Gabe solcher Derivate, insbesondere der Ester, muß damit gerechnet werden, daß sie bei der Passage von Darmwand und Leber ganz oder teilweise gespalten werden (REPKE). Die Geschwindigkeit, mit der das geschieht, kann für ihre relative enterale Wirksamkeit (reW) entscheidend sein. Erfolgt die Abspaltung bereits im Darm, so kann eine geringe reW wegen der schlechten Resorption von Helveticosid und Helveticosol resultieren. Werden die Derivate erst in der Leber verändert, so kann eine „überhöhte“ reW dann eine zu hohe Resorption vortäuschen, wenn das Spaltprodukt wirksamer ist als das applizierte Derivat.

Die folgenden Versuche sollten Hinweise auf das Stoffwechselschicksal einiger Ester und Äther von Helveticosid und Helveticosol geben und damit die Beurteilung der gefundenen enteralen Wirksamkeiten unterstützen.

Über die Chemie der Glykoside siehe KAISER, VOIGTLÄNDER u. STACH, Strukturformel: SCHAUMANN u. WEGERLE.

Methoden

1. Inkubationen mit Enzympräparaten

Die menschlichen Organe (vom Opfer eines tödlichen Unfalls) wurden wenige Stunden nach dem Tod entnommen und bis zur Aufarbeitung eingefroren. Katzen wurden durch Luftembolie getötet, Meerschweinchen durch Genickschlag. Der Dünndarm wurde der Länge nach aufgeschnitten und unter fließendem Wasser gespült. Mit einem stumpfen Instrument wurde die Oberfläche abgekratzt. Bei Mensch und Katze wurde auf diese Weise reine Schleimhaut gewonnen, bei Meerschweinchen wurde die Ringmuskulatur mit entfernt. Darmschleimhaut, Leber und Niere wurden in 5%iger Glucose homogenisiert und 10 min lang bei 600 g zentrifugiert. Der Überstand wurde lyophilisiert. Zum Versuch wurde das Gesamteiweiß nach der Biuretmethode bestimmt und mit 5%iger Glucose auf 0,1–1,0% eingestellt. Zu Proben von 4,75 ml wurde 1 mg der Glykoside in 0,25 ml DMA zugesetzt und 2 Std bei 37°C inkubiert. Sie wurden anschließend in Eiswasser eingebracht um die Fermente zu bremsen und sofort weiterverarbeitet. Eine Inaktivierung der Esterasen durch Erhitzen hatte sich wegen der teilweise erfolgenden Umlagerung der noch verbleibenden Estergruppen als unzweckmäßig erwiesen.

Zur Bestimmung der Metabolite wurden die Proben mit 80 ml Methanol versetzt, 10 min geschüttelt und vom ausgefallenen Eiweiß abfiltriert. Der Methanol-extrakt wurde mit 80 ml Wasser und 1 ml gesättigter Kochsalzlösung versetzt und zweimal mit je 80 ml Petroläther ausgeschüttelt. Die wäßrig-alkoholische Lösung wurde dreimal mit je 70 ml Chloroform ausgeschüttelt, die vereinigten Chloroform-extrakte mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, i. vac. eingengt, in ein 5 ml Spitzkölbchen überführt und i. vac. zur Trockne gebracht.

2. In vitro-Versuche mit Meerschweinchendünndarm

Der Dünndarm frisch getöteter Tiere wurde in drei gleiche Teile geteilt. Je 1 mg Glykosid wurde in 2,5 ml Tyloselösung mit 5% DMA gelöst, in je eine der

drei abgebundenen Darmschlingen injiziert und 1 Std bei 37° inkubiert. Als Inkubationsflüssigkeit dienten 50 ml Tyrode, die mit Sauerstoff durchperlt wurden.

Danach wurden die Darmschlingen und Außenflüssigkeiten getrennt mit Eiswasser gekühlt und sofort aufgearbeitet.

a) Die Darmschlingen wurden in Methanol homogenisiert und wie unter 1. behandelt.

b) Die Außenflüssigkeit wurde dreimal mit je 50 ml Chloroform ausgeschüttelt, die vereinigten Chloroformextrakte wie unter 1. behandelt.

3. *In vivo*-Versuche mit Meerschweinchendünndarm

Je 6 Tieren wurde in Urethannarkose 4 mg/kg Glykosid in 10 ml/kg 1%iger Tylose mit 5% DMA in das abgebundene Duodenum injiziert. Nach dem Tode wurde der Darm entnommen und in Methanol homogenisiert. Die Aufarbeitung bis zum trockenen Chloroformextrakt geschah wie unter 1. beschrieben.

4. *Inkubation mit menschlichem Serum und Vollblut*

1 mg Glykosid in 0,25 ml DMA und 3,75 ml isotoner Glucoselösung wurden mit 1 ml Vollblut bzw. 1 ml verdünntem Serum 2 Std bei 37° inkubiert. Das Blut hatte einen Hämatokrit von 0,47. Dementsprechend wurden 0,53 ml des reinen Serums mit 0,47 ml Glucoselösung verdünnt, so daß alle Proben gleich viel Serum enthielten. Die Inkubationslösungen wurden sofort nach dem Versuch mit Eiswasser gekühlt und aufgearbeitet. Nach Versetzen mit 80 ml Methanol wurde die Aufarbeitung wie unter 1. durchgeführt.

5. *Papierchromatographische Auswertung* (KAISER)

Papier Schl. & Sch. 2043 b mgl, 35 × 12 cm.

Imprägnierung: 20% Formamid in Aceton.

Entwicklung: Xylol-Methyläthylketon 1:1

Heptan-Methyläthylketon 1:1 (bei Dibutyryl-helveticosid und 19-Propionyl-3',4'-di-O-methylhelveticosol).

Auftragung: 5 µl der in 0,1 ml Chloroform-Methanol 1:1 gelösten Chloroformextrakte 1.—4.

Testreihen (10, 30 und 50 µg) des im jeweiligen Versuch eingesetzten Helveticosid-Derivates; außerdem Helveticosid bzw. Helveticosol (10 µg) und 10, 30, 50 µg des zu erwartenden Metaboliten (Monoester).

Detektion und Abschätzung. Die fertigen Chromatogramme wurden mit Trichloressigsäure-Chloraminreagens (25% Trichloressigsäure in Äthanol-3% Chloramin in H₂O 15:1) besprüht, 3 min auf 130° erhitzt und unter der UV-Lampe (366 mµ) durch Vergleich der Fluoreszenzintensitäten mit den Testreihen ausgewertet.

Zur zweiten Auswertung wurden die Chromatogramme im Trockenschrank mit Umluft bei 100°C von der überschüssigen Trichloressigsäure befreit und anschließend mit Kedde-Reagens besprüht (2 g 3,5-Dinitrobenzoesäure in 100 ml Methanol + 100 ml N KOH).

Abschätzung der blauen Farbflecken erfolgte nach Größe und Intensität.

Durch diese doppelte Auswertung konnte eine für den Zweck der Untersuchungen ausreichende Fehlerbreite von etwa ± 20% der Schätzwerte erreicht werden.

Die Ergebnisse wurden in Prozent Glykosid bzw. Metabolit bezogen auf die Gesamtmenge der wiedergefundenen Glykoside berechnet.

Ergebnisse

1. Inkubation mit Enzympräparaten

Untersucht wurden alle in Tab. 1 verzeichneten Ester von Helveticosid und Helveticosol an Leberpräparaten von Mensch, Meerschweinchen und Katze, ein Teil auch mit Darm- und Nierenpräparaten. Die Äther und cyclischen Äther 3',4'-Di-O-methyl-helveticosol, Helveticosid- und Helveticosol-acetonid (Isopropyliden-helveticosid bzw. Isopropyliden-helveticosol) wurden ebenfalls mit den Leberpräparaten der drei Species, Isobutyliden-helveticosid und Cyclohexyliden-helveticosol nur mit dem menschlichen Leberpräparat inkubiert.

Ester. Wie die in Tab. 1 zusammengefaßten Daten zeigen, fand in allen Fällen überwiegend eine Abspaltung nur einer Acylgruppe statt. Die Leberpräparate entfalteten dabei die stärkste Enzymaktivität. Die Verseifungsgeschwindigkeiten lagen bei den Organpräparaten von Mensch und Meerschweinchen in der gleichen Größenordnung, während die Esterasen in den Organen der Katze weniger aktiv waren. Von allen untersuchten Estergruppen wurden die Acetylgruppen am langsamsten abgespalten. Das ist ein überraschendes Ergebnis, wenn man an die Befunde von MEGGES u. REPKE (1962) denkt, wo von verschiedenen Gitoxinestern gerade die Acetylgitoxine am schnellsten gespalten wurden.

Bei den Diestern blieb die Esterspaltung fast ganz auf der Stufe der 3'-Monoester stehen.

Acylgruppen in 3'-Stellung der Digitoxose wurden also von den Esterasen kaum angegriffen. Das entspricht ganz den Ergebnissen, die MEGGES u. REPKE (1963) mit α -Acetylgitoxin an Ratten erhielten.

Die von Monoacetylglykosiden, z. B. Acetyldigitoxin, Acetyldigoxin und Acetylgitoxin bekannte, unter bestimmten Bedingungen in Lösungen erfolgende Acetylwanderung (STOLL und KREIS 1934, 1952; HABERLAND), ließ sich auch bei den Helveticosid- und Helveticosolestern provozieren. Als wir bei den ersten Versuchen die Enzymeinwirkung durch Erhitzen der Probe im heißen Wasserbad abbrechen, wurde aus Diestern entstandener 3'-Monoester zum Teil in 4'-Monoester umgewandelt. Umgekehrt entstanden beim Kochen von 4'-Monoestern in wäßrigem Alkohol die 3'-Monoester (KAISER, VOIGTLÄNDER u. STACH). Wurde der Inkubationsversuch statt mit kochendem Wasser mit Eiswasser abgebrochen, so bildete sich meist kein oder nur sehr wenig 4'-Acylglykosid. Eine auffallende Ausnahme machte das Leberpräparat der Katze. Hier fanden sich beide Monoester im Extrakt, auch wenn statt der Diester der 4'-Monoester eingesetzt worden war. Daß es sich in diesem Fall um eine echte Enzymwirkung handelte, zeigte das Fehlen von 3'-Monoester bei der Einwirkung von Leberpräparat, das durch Heißwassereinwirkung inaktiviert worden war.

Tabelle 1. *Entacylierung von Helveticosid- und Helveticosol-Estern durch Leber-, Dünndarm- und Nierenhomogenate von Mensch, Meerschweinchen und Katze Ausgangsglykosid und Metabolite in Prozent der extrahierten Gesamtmenge*

Substanz	Anzahl Acylgruppen	Mensch				
		Darm		Leber		Niere
		Eiweiß				
		1%	1%	0,5%	0,1%	0,5%
Diformyl-helveticosid	2			Sp	50	
	1			70 + 15	30 + 5	
	0			15	15	
Diacetyl-helveticosid	2	30	15	40	95	80
	1	65	75	55	5	20
	0	5	10	5	0	0
4'-Monoacetyl-helveticosid	1			25*		
	0			70		
Triacetyl-helveticosol	3	35	15			
	2	60	75			
	1	5	10			
	0	0	0			
Diacetyl-helveticosol	2	40	20	60	95	60
	1	55	70	40	5	40
	0	5	10	0	0	Sp
Dipropionyl-helveticosid	2	0	0	0	0	
	1	95	95	95	95	
	0	5	5	5	5	
4'-Monopropionyl-helveticosid	1			5	45	
	0			90	45	
Dipropionyl-helveticosol	2			0	25	
	1			98	75	
	0			2	0	
Dibutyryl-helveticosid	2	0	0			
	1	70	60			
	0	30	40			
19-Propionyl-3',4'-di-O-methyl-helveticosol	1			100	100	
	0			0	0	

Bemerkenswert ist das Auftauchen von 4'-Monoformyl-helveticosid neben allerdings der drei- bis sechsfachen Menge 3'-Monoformyl-helveticosid, was für eine besonders leicht verlaufende Umlagerung der Formylgruppe spricht. In Tab. 1 ist das Vorkommen beider Monoester durch zwei Zahlen kenntlich gemacht, wobei die erste die Menge des 3'-Monoesters, die zweite den Anteil des 4'-Monoesters angibt. Bei den Versuchen mit Diformyl- und Diacetyl-helveticosid am Leberpräparat der Katze konn-

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Substanz	Anzahl Acyl- gruppen	Meerschweinchen				
		Darm		Leber		Niere
		Eiweiß				
		1%	1%	0,5%	0,1%	1%
Diformyl-helveticosid	2			0	30	
	1			30 + 10	30 + 10	
	0			60	30	
Diacetyl-helveticosid	2	65	10	30	80	95
	1	32	60	60	20	5
	0	3	30	10	0	0
4'-Monoacetyl-helveticosid	1			20*		
	0			75		
Triacetyl-helveticosol	3	50		15		
	2	45		75		
	1	5		10		
	0	0		0		
Diacetyl-helveticosol	2	50		25	70	95
	1	45		75	30	5
	0	5		Sp	Sp	0
Dipropionyl-helveticosid	2	0	0	0	0	0
	1	70	95	95	100	80
	0	30	5	5	0	15
4'-Monopropionyl-helveticosid	1			0	5 + 15	
	0			95	80	
Dipropionyl-helveticosol	2			0	0	
	1			100	95	
	0			0	5	
Dibutyryl-helveticosid	2			0		
	1			70		
	0			30		
19-Propionyl-3',4'-di-O-methyl-helveticosol	1			25	60	
	0			75	40	

ten wegen nicht ausreichender Trennung im PC die Mengenverhältnisse der beiden Monoester nicht abgeschätzt werden.

Am C-Atom 19 des Aglykons veresterte Helveticosol-Derivate (Triacetyl-helveticosol, 19-Propionyl-3',4'-di-O-methyl-helveticosol) wurden von Mensch und Katze nicht gespalten, dagegen vom Meerschweinchen. Da 19-acylierte Strophanthidinglykoside eine erheblich verringerte i.v. Wirksamkeit haben, ist gerade bei ihnen die Abspaltung der Acylgruppe Voraussetzung für die enterale Wirksamkeit.

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Substanz	Anzahl Acyl- gruppen	Katze				
		Darm		Leber		Niere
		Eiweiß				
		1%	1%	0,5%	0,1%	1%
Diformyl-helveticosid	2			20	30	
	1			30	35	
	0			50	35	
Diacetyl-helveticosid	2	> 95	60	80	95	80
	1	< 5	30	15	5	20
	0	0	10	5	0	0
4'-Monoacetyl-helveticosid	1			20 + 50*		
	0			10		
Triacetyl-helveticosol	3					
	2					
	1					
	0					
Diacetyl-helveticosol	2	> 95	93	90	97	60
	1	< 5	7	6 + 4	2 + 1	40
	0	0	0	0	0	Sp
Dipropionyl-helveticosid	2	60	Sp	5	80	
	1	40	> 95	30 + 60	15 + 5	
	0	0	0	5	0	
4'-Monopropionyl-helveticosid	1			30 + 50	30 + 55	
	0			20	15	
Dipropionyl-helveticosol	2			10	40	
	1			40 + 50	20 + 40	
	0			0	0	
Dibutyryl-helveticosid	2	30	Sp			
	1	70	> 95			
	0	0	0			
19-Propionyl-3',4'-di-O-methyl-helveticosol	1			100	100	
	0			0	0	

* 0,25% Eiweiß.

Die 4'-Monoacetyl-helveticoside wurden durch die Leberpräparate von Mensch und Meerschweinchen weitgehend zu Helveticosid gespalten. Auf den Chromatogrammen fanden wir in geringen Mengen ein oder zwei Flecken von polaren Glykosiden, die offenbar durch Oxydation an C19 entstanden waren (VON WARTBURG, BINKERT u. ANGLIKER; REPKE, KUBASCH u. ČARMAN-KRŽAN). In solchen Fällen ergänzen sich die Prozentangaben in Tab. 1 nicht zu 100.

Di-Äther und cyclische Äther. 3',4'-Di-O-methyl-helveticosol, Helveticosid-acetonid und Helveticosol-acetonid wurden durch die Leber-

Tabelle 2. Analyse des im abgebandenen Dünndarm nach dem Herzstillstand verbliebenen Restes an Glykosid und Metabolit
Je sechs Meerschweinchen erhielten 4 mg/kg intraduodenal

Substanz	Tod nach min	Rest im Darm in Prozent der Dosis					Σ
		HA	HA-Metabolit	DMH	PDMH	Cymarol	
Helveticosol-acetonid (HA)	12,8 (10,2—15,9)	26 (25—30)	1 (< 1—2)				27
3',4'-Di-O-methyl-helveticosol (DMH)	10,4 (8,3—11,3)			35 (30—40)		2 (1—3)	37
19-Propionyl-3',4'-di-O-methyl-helveticosol (PDMH)	9,4 (7,7—10,3)			8 (4—12)	5 (2—8)	1 (< 1—2)	14

präparate von Mensch, Meerschweinchen und Katze nicht verändert. Cyclohexylden-helveticosol wurde nach Inkubation mit menschlichem Leberpräparat unverändert, Isobutyliden-helveticosid zu 90% unverändert wiedergefunden.

2. In vitro-Versuche mit Meerschweinchendünndarm

Die eingesetzten Glykoside Helveticosol-acetonid und 3',4'-Di-O-methyl-helveticosol blieben in jedem der drei Darmabschnitte weitgehend unverändert. Lediglich 2—5% der wiedergefundenen Menge waren metabolisiert, im Falle des Acetonids zu einem Produkt, das nach Lage im Chromatogramm nur noch eine verschlossene Hydroxylgruppe enthielt, im Falle des Diäthers zum Monoäther Cymarol. Der am C-Atom 19 veresterte Dimethyläther des Helveticosols, 19-Propionyl-3',4'-di-O-methyl-helveticosol, wurde durch die Esterasen fast vollständig zum Helveticosol-3',4'-dimethyläther gespalten. Nur 5% waren unverändert und 5% zu 3'-Mono-methyläther metabolisiert.

In den Außenflüssigkeiten fanden sich in allen Fällen nur einige Prozent der unveränderten Substanzen und Metabolite bezogen auf die im Darm vorhandenen Mengen. Eine Verschiebung der Mengenverhältnisse war nicht nachweisbar.

3. In vivo-Versuche mit Meerschweinchendünndarm

Während der kurzen Überlebenszeit von 8—16 min wurden Diäther und cyclische Äther im Darm lebender Tiere nur in geringer Menge ge-

spalten, wobei aus Helveticosol-3',4'-dimethyläther ein wenig Cymarol und aus Helveticosol-acetonid ein Metabolit entstand, der nach seiner Stellung im Chromatogramm vermutlich ein Derivat mit nur einer verschlossenen Hydroxylgruppe darstellt.

Die Propionylgruppe im 19-Propionyl-helveticosol-3',4'-dimethyläther wurde im Darm des lebenden Tieres, wie bei den Versuchen mit Leberhomogenat und isoliertem Dünndarm des Meerschweinchens, bereits während der kurzen Zeit weitgehend abgespalten.

In der letzten Spalte der Tab.2 ist die Summe der wiedergefundenen Glykoside in Prozent der injizierten Dosis angegeben. Erfahrungsgemäß werden bei dem verwendeten Extraktionsverfahren mindestens 90% Glykosid wiedergefunden. Der aus dem Darm verschwundene Teil entspricht ohne nennenswerte Korrektur der Resorptionsquote. Von Helveticosol-acetonid wurden somit 2,9 mg/kg aufgenommen, was recht gut der von SCHAUMANN u. WEGERLE bestimmten intraduodenal tödlichen Dosis von 2,5 mg/kg entspricht. Eine nennenswerte Inaktivierung während der Resorption ist somit auszuschließen. Noch besser ist die Übereinstimmung bei dem Dimethyläther; die aufgenommene Menge von 2,5 mg/kg entspricht genau der tödlichen Dosis. Mit dem 19-Propionyl-ester des Dimethyläthers wäre dasselbe Ergebnis zu erwarten gewesen, da der Ester offenbar nur als „Gleitschiene“ im Sinne von MEGGES u. REPKE (1961) dient. Die Substanz wirkt beim Meerschweinchen noch schneller als der Dimethyläther, doch liegen die intraduodenal tödlichen Dosen in gleicher Höhe. Trotzdem wurde ein deutlich höherer Prozentsatz resorbiert.

4. Inkubation mit menschlichem Serum und Gesamtblut

Diacetyl-helveticosid und Dipropionyl-helveticosid blieben im Serum überwiegend unverändert. Nur 2—3% der applizierten Menge wurden zu 3'-Mono-acyl-Derivat gespalten. 4'-Monopropionyl-helveticosid wurde zum größten Teil in 3'-Monopropionyl-helveticosid umgelagert. Mit Gesamtblut haben wir nur Dipropionyl-helveticosol inkubiert. Ca. 95% blieben unverändert. Je 2—3% 3'-Monopropionyl-helveticosid und Helveticosid waren nachweisbar.

Die Esterspaltung findet im Blut demnach nur in ganz geringem Umfang statt.

Literatur

- HABERLAND, G.: Darstellung und Eigenschaften von Glykosidestern. *Arzneimittelforsch.* **15**, 481 (1965).
KAISER, F.: Die papierchromatographische Trennung von Herzgiftglykosiden. *Chem. Ber.* **88**, 556 (1955).
— W. VOIGTLÄNDER u. K. STACH: Über Helveticosid-Derivate. *Arzneimittelforsch.* (im Druck).

- MEGGES, R., u. K. REPKE: Über Faktoren, welche die orale Wirksamkeit von Herzglykosiden bestimmen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **241**, 534 (1961).
- — Über den Einfluß von Acylresten auf die fermentative Spaltung von Herzglykosiden. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **243**, 330 (1962).
- — Die limitierenden Faktoren für die orale Wirksamkeit cardiotonischer Steroide. Mber. dtsh. Akad. Wiss. Berlin **5**, 136 (1963).
- REPKE, K.: Biochemie und Klinik der Digitalis. Internist **7**, 418 (1966).
- U. KUBASCH u. M. ČARMAN-KRŽAN: Atmosphärische Oxydation von 19-Oxocardenoliden in wäßriger Lösung. Arzneimittel-Forsch. **16**, 1469 (1966).
- SCHAUMANN, W., u. R. WEGERLE: Verbesserung der Resorption von Helveticosid und Helveticosol durch Verschuß freier Hydroxylgruppen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **262**, 73 (1969).
- STOLL, A., u. W. KREIS: Acetyldigitoxin, Acetylgitoxin und Acetyldigoxin. Helv. chim. Acta **17**, 592 (1934).
- — Acetyldigitoxin- α und Acetyldigitoxin- β . Helv. chim. Acta **35**, 1318 (1952).
- WARTBURG, A. VON, I. BINKERT u. E. ANGLIKER: Über die Autoxydation des Strophanthidins. Helv. chim. Acta **45**, 2122, 2139 (1962).

Dr. F. KAISER und
Prof. Dr. W. SCHAUMANN
Boehringer Mannheim GmbH
6800 Mannheim 31, Sandhofer Str. 112—124