Paul Ehrlich-
Institut
Bibliothek
Frankfurt a. Main

ARBEITEN AUS DEM STAATSINSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE UND DEM GEORG SPEYER-HAUSE ZU FRANKFURT A. M.

BEGRÜNDET VON PAUL EHRLICH

HERAUSGEGEBEN VON

DR. W. KOLLE

DIREKTOR DES STAATSINST. FÜR EXP. THERAPIE UND DES GEORG SPEYER-HAUSES,
O. HONORARPROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT FRANKFURT A. M.

Heft 17.

[Aus dem Georg Speyer-Hause in Frankfurt a. M.]

Studien über das chemotherapeutische Mittel Bayer 205.

I. W. Kolle, Ueber den chemotherapeutischen Wirkungsvorgang und die Arzneifestigkeit bei Bayer 205 und anderen chemischen Stoffen.

II. Frida Leupold, Gewinnung und Eigenschaften von „Bayer 205"-festen Trypanosomenstämmen.

III. W. A. Collier, Untersuchungen über die Festigung von Tsetsetrypanosomen gegen Bayer 205 und Arsenikalien.

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1924

Übersetzungsrecht vorbehalten.

Paul Ehrlich-
Frankf... ...main

X
g (17-20)

I.

Ueber den chemotherapeutischen Wirkungsvorgang und die Arzneifestigkeit bei Bayer 205 und anderen chemischen Stoffen.

Von

W. Kolle.

Das Präparat Bayer 205 hat mit Recht wegen seiner starken, bisher von keinem Mittel erreichten Wirkung auf Trypanosomen das Interesse der Chemotherapeuten und derjenigen erregt, die sich mit der Heilung und Bekämpfung der Trypanosomenkrankheiten des Menschen — namentlich der Schlafkrankheit — und der in Afrika, Amerika und Asien so weit verbreiteten Trypanosomeninfektionen der Tiere beschäftigten. Ich verweise hier auf die Veröffentlichungen von Händel und Joetten, Martin Mayer und Zeiss, F. K. Kleine und Fischer, Migone, Bärmann, Rodenwaldt und Douwes, Ruppert, Sei u. a., die bislang experimentell an kleinen und großen Tieren sowie beim Menschen die Heilwirkung des Mittels studiert haben. Für den Chemotherapeuten bietet die interessante Entdeckung des Mittels Bayer 205 aber auch aus anderen Gründen einen Reiz zum Studium dieses Körpers. Im Gegensatz zu den bis jetzt bekannten trypanoziden Mitteln, einschließlich der Arsenobenzolderivate, läßt sich mit einer einzigen oder mit wenigen Injektionen des Mittels Bayer 205 bei chronischen Trypanosomeninfektionen nicht nur in den Anfangsstadien sondern auch in späteren Stadien in einem hohen Prozentsatz eine Heilung herbeiführen. Mit Farbstoffen und Arsenobenzolderivaten läßt sich bei vorgeschrittenen akuten Infektionen beim Tier nur mit großen Dosen eine Heilung erzielen; bei chronischen Trypanosomen- und Spirochäteninfektionen ist oft eine langdauernde Behandlung nötig und läßt doch in einem erheblichen Prozentsatz im Stich.

Es sei hier auf die Untersuchungen verwiesen, die Verf. bei syphilitisch infizierten Kaninchen angestellt hat. Hier konnte der experimentelle Nachweis erbracht werden, daß ganz in Uebereinstimmung mit der Erfahrung beim syphilitisch infizierten Menschen nur innerhalb der ersten 4 Wochen nach der Injektion mit Sicherheit eine

Sterilisierung des infizierten Individuums und Heilung der Infektion erfolgt. Mit dem Präparat Bayer 205 gelingt aber die Sterilisierung bzw. Heilung der chronischen Trypanosomeninfektion des Menschen, wenn die Erkrankung auch klinisch schwere Symptome gesetzt hat, und zwar mit einer einzigen oder wenigen Injektionen auch in den Spätstadien in einem anscheinend sehr hohen Prozentsatz (Kleine und Fischer). Das von den Chemikern Heymann, Kothe und Dressel unter Mitarbeit des Biologen Röhl gefundene Mittel besteht, wie die trypanoziden Farbstoffe, nur aus ungiftigen Atomen C·H·O·N·S. Seine chemische Konstitution ist aus Gründen, die unter den heutigen Weltzuständen nicht nur verständlich, sondern auch berechtigt sind, von den Forschern, die dasselbe fanden, bzw. von den Elberfelder Farbwerken noch nicht bekannt gegeben. Ob die Formel, die Karrer [1]) angegeben hat, die richtige ist, steht nicht fest [2]). Vom wissenschaftlichen Standpunkt aus ist die Geheimhaltung der Konstitution von Bayer 205 zu bedauern, weil wir hier ein wirklich wertvolles, alle bisher bekannten trypanoziden Mittel bezüglich Heil- und Dauerwirkung übertreffendes Präparat vor uns haben, dessen chemotherapeutische Zergliederung uns sicher theoretisch und praktisch weiterbringen würde. Es kann kein Zweifel sein, daß die spezifische Struktur dieses Mittels ihm eine Sonderstellung in seinem Verhalten gegenüber anderen, aus ähnlichen oder aus den gleichen Elementen und in ähnlicher Struktur zusammengesetzten Körpern verleiht. Das wird namentlich bewiesen durch die außerordentlich langdauernde, von M. Mayer und Zeiss zuerst festgestellte prophylaktische Wirkung, die Bayer 205 besitzt. Während sich durch die Arsenobenzolderivate, Farbstoffe, Metalle nur ganz kurzdauernde Schutzwirkungen gegen Trypanosomen- und Spirochäteninfektionen erzielen lassen, wirkt das Präparat B. 205 selbst nach einmaliger Einverleibung in den Körper so lange Zeit schützend, wie wir es bisher nur bei spezifischer Immunisierung mit lebenden oder abgetöteten Infektionserregern erfuhren. Es ergaben sich aus dieser Tatsache wichtige Fragestellungen.

Es war zu untersuchen, ob das Mittel in erster Linie direkt durch Verankerung an die mit Chemorezeptoren ausgestatteten Parasiten oder ob es indirekt, z. B. durch Umstimmung des Körpers, wirkt; ob das Präparat infolge langdauernden Kreisens in den Säften, ob es vorwiegend durch seine Haftung in den Zellen und ein langsames Freiwerden aus diesen in der Weise wirkt, daß es die Entwicklung der

1) Schweiz. Chemiker-Zeitung.

2) Inzwischen ist von Fourneau die Konstitutionsformel des Präparates B. 205 festgestellt und veröffentlicht worden. Annales de l'Inst. Pasteur, 1924.

Parasiten bzw. ihre Vermehrung hemmt; oder ob es Stoffe, die entwicklungshemmend wirken, aus den Zellen freimacht; oder ob es im Sinne der Umstimmung des Körpers wirkt, wie es für die spezifische aktive Immunisierung nach der Theorie der veränderten Reizbarkeit der Zellen angenommen wird. Man muß annehmen, daß beim immunisierten Tier die Antikörper auf erneutes Eindringen der spezifischen Erreger in den Körper von den umgestimmten Zellen sofort und in relativ großer Menge erzeugt werden. Auch bei Tieren, die mit Bayer 205 behandelt sind, könnte an ein ähnliches Verhalten der Zellen, an eine Umstimmung wie bei den spezifisch vorbehandelten Tieren gedacht werden.

Ein Teil dieser Fragen hat bereits durch die Untersuchungen von M. Mayer, Zeiss, Giemsa und Halberkann Beantwortung erfahren. Diese Autoren fanden durch Tierversuche, daß das Mittel noch Monate nach der Einverleibung im Blute und in den Organzellen in wirksamer Form nachweisbar ist, und stellten fest, daß das Mittel lange Zeit im Blute kreist, und zwar wohl größtenteils an das Glubulin gebunden (Mayer, Zeiss, Giemsa und Halberkamm). Sei fand es neuerdings auch in der Niere, Leber, Nebenniere, in geringerem Grade auch in Lunge und Milz. Im Urin ist es noch längere Zeit nach der Injektion auf biologischem Wege nachweisbar. Nach Steppuhn, Zeiss und Brychonenko wird durch Bayer 205 die Gerinnungsfähigkeit des Blutes herabgesetzt oder aufgehoben, ebenso die Hitzekoagulation, auch werden mit dem Mittel versetzte Serumlösungen nicht durch Sublimat oder Tannin gefällt. Es bindet das Komplement des Serums und beraubt Diphtherieantitoxin seiner Schutzkraft. Es schützt Eiweiß gegen Fermentwirkung.

Für die Vorstellungen von dem chemotherapeutischen Wirkungsvorgang hat durch die Untersuchungen P. Ehrlichs die Tatsache der Arzneifestigkeit besondere Bedeutung gewonnen. Die Feststellung, daß Parasiten durch Behandlung mit unterschwelligen Dosen von Heilstoffen gegen die Wirkung derselben schließlich völlig unempfindlich werden können, war für Ehrlich die wichtigste Stütze seiner Chemozeptorentheorie. Schon aus diesen theoretischen Gesichtspunkten heraus mußte der Versuch, pathogene Trypanosomen gegen ein Mittel von der ungewöhnlichen Wirksamkeit des Präparates Bayer 205 zu festigen, besonderes Interesse bieten um so mehr, als Mayer und Zeiss in dieser Hinsicht negative Ergebnisse mitgeteilt hatten.

Versuche in dieser Richtung sind im Georg Speyer-Hause Mitte des Jahres 1921 begonnen und im Dezember 1922 abgeschlossen worden. Die Herausgabe der Arbeiten hat sich aus äußeren Gründen bisher verzögert. Die Versuche wurden von Fräulein F. Leupold und Dr. W. A. Collier unabhängig voneinander angestellt und ergänzen sich gegenseitig, wie aus den nachstehenden Arbeiten der Genannten hervorgeht.

Sie führten zunächst zu dem Ergebnis, daß eine erhebliche Widerstandsfähigkeit der ursprünglich hochempfindlichen Trypanosomenstämme gegen Bayer 205 sich sehr schnell herausbildet und daß auch eine völlige Festigkeit nach denselben Methoden zu erzielen ist, deren sich bereits früher Ehrlich und seine Mitarbeiter bei ihren Versuchen mit Arsenikalien und Farbstoffen mit Erfolg bedient hatten. Von den Ergebnissen von F. Leupold und W. A. Collier ist weiter bemerkenswert, daß die Festigung gegen Bayer 205 auch eine solche gegen Trypanblau nach sich zieht, was inzwischen auch Morgenroth und Freund mitgeteilt haben. Ferner konnte festgestellt werden, daß die gefestigten Stämme auch mehr oder weniger gegen Vertreter der Triphenylmethan- und Akridinfarbstoffe und gegen Arsazetin widerstandsfähig sind.

Verhältnismäßig leicht ließ sich ein Stamm erzielen, der überhaupt gegen Vertreter aller bekannter Heilstofftypen fest war. Das geschah, als die Festigung in Mäusen vorgenommen wurde, die einige Zeit vorher große Dosen von Salvarsanpräparaten erhalten hatten. Von besonderem Interesse ist endlich, daß Stämme, die gegen andere Heilstofftypen fest geworden sind, sich zwar leichter gegen Bayer 205 festigen lassen, die vorherige Festigkeit gegenüber dem anderen Heilstoff aber auch verlieren können.

Ueber Festigkeit von Trypanosomen gegenüber Bayer 205 ist inzwischen, abgesehen von der bereits erwähnten Arbeit von Morgenroth und Freund, auch von Rodenwaldt und Douwes und von F. K. Kleine und Fischer berichtet worden. In einer bereits vorher erfolgten Mitteilung von Pfeiler u. a. war das Vorliegen einer Festigkeit zwar vermutet, aber nicht mit Sicherheit erwiesen worden. Rodenwaldt und Douwes geben an, daß man schon ganz kurze Zeit nach der Injektion von Bayer 205 aus einem surrakranken Pferd Trypanosomen herauszüchten könne, die eine deutlich erhöhte Resistenz gegenüber dem Mittel zeigen. Sie sind der Ansicht, daß dieser Befund nur durch eine Auslese primär resistenter Individuen erklärt werden könne, und wollen den gesamten Festigungsvorgang als eine solche Auslese aufgefaßt wissen.

Collier hat an naganainfizierten Mäusen diese Versuche wiederholt (ined.), es ist ihm aber nicht gelungen, etwas Aehnliches nachzuweisen. Damit sind freilich die Angaben von Rodenwaldt und Douwes nicht widerlegt. Das Pferd kann sich da ganz anders verhalten, wie es ja auch auf Bayer 205 in ganz anderer Weise reagiert als die Maus. Außerdem sind, wie weiter unten noch erörtert wird, bereits zahlreiche Beispiele plötzlich auftretender erhöhter Resistenz von Trypanosomen gegen Chemikalien, die konstant die betreffenden Trypanosomenspezies beeinflußten, seit langer Zeit bekannt.

Es ist auch als gesichert zu betrachten, daß es scheinbar primär arzneifeste Trypanosomen in der ganzen Welt gibt, und es braucht nur

an die beträchtliche Arsenresistenz der Congolense- und Vivaxgruppe oder an die des Trypanosoma lewisi erinnert zu werden. Ob man nun deswegen aber berechtigt ist, das Vorkommen primär völlig fester Individuen auch inmitten derjenigen Stämme anzunehmen, die in ihrer Gesamtheit als hochempfindlich gegenüber dem betreffenden Arzneimittel angesehen werden müssen, scheint doch fraglich. Es steht dem die vielseitig erwiesene Tatsache gegenüber, daß eine maximale Festigung solcher Stämme sich meist nur nach längerer Einwirkung des betreffenden Chemikales nachweisen läßt, und gewöhnlich sogar erst nach sehr langer Einwirkung.

Wie aus den erwähnten Mitteilungen von F. Leupold und Collier ersichtlich ist, bedarf es bei dem Präparat Bayer 205 keineswegs einer besonders langen Behandlung, um eine maximale Unempfindlichkeit der Trypanosomen ihm gegenüber zu erzielen. Es zeigt sich hier offenbar der Nachteil derjenigen Eigenschaft des Präparates, die sonst gerade seinen Vorzug ausmacht, nämlich der langen Remanenz im Organismus. Weiter ist wahrscheinlich die relativ rasch eintretende maximale Festigung die Folge der relativ langsamen Wirkung von Bayer 205. Je länger ein Mittel im behandelten Organismus kreist und je langsamer es seine Wirkung entfaltet, um so leichter kann sich bei den Trypanosomen der Zustand herausbilden, der über eine erhöhte Resistenz schrittweise zur völligen Unempfindlichkeit führt.

In besonders instruktiver Weise zeigt dies ein Versuch von Rodenwaldt am Pferd, wobei von Rezidiv zu Rezidiv die Beeinflußbarkeit der Trypanosomen abnimmt. Aus den Versuchen von Fräulein Leupold ergibt sich, daß auf diesem Wege relativ schnell eine vollständige Unempfindlichkeit entstehen kann. Es wirken hier wahrscheinlich zwei verschiedene Einflüsse in gleichem Sinne, einerseits der durch die subtherapeutische Dosis des Medikamentes auf die Parasiten ausgeübte Reiz, andererseits die vielleicht gleichzeitig unter dem Einfluß von Antikörpern erfolgende Bildung von Rezidivstämmen. Die Rezidivstammbildung führt, wie wir seit P. Ehrlich wissen, zu sehr auffallenden Aenderungen im biochemischen Bau der Parasiten, die sich darin äußern, daß die Zellen ganz neue antigene Eigenschaften bekommen.

Durch die Versuche, die Collier mitteilt, wird erwiesen, daß auch die Arsenobenzolderivate länger, als wohl vielfach angenommen ist, im Körper verbleiben, und zwar in einer Form, die — im Sinne der Heilungsmöglichkeit — günstige und ungünstige Wirkungen hat. Erstere bestehen darin, daß normal empfindliche, den mit Arsenobenzolen behandelten Tieren einverleibte Trypanosomen eine deutliche Abschwächung ihrer Virulenz erfahren. Ungünstig ist zweifellos, daß von solchen maskierten oder offenen Depots Einflüsse ausgehen, welche die Resistenz der Parasiten erhöhen und damit die Heilungsmöglichkeit verringern.

Die Tatsche, daß in „Salvarsanmäusen“ die Trypanosomen undeutliche, wenn auch wechselnde Beeinflussung durch das einige Zeit (16—24 Tage) vorher eingeführte Medikament erkennen lassen, gleichzeitig aber die Erscheinung der Resistenzerhöhung gegenüber demselben zeigen, möchten wir ebenfalls in dem Sinne verwertet wissen, daß der letztere Vorgang mit dem ersten in direkter Beziehung steht. Es kommt hier wahrscheinlich noch hinzu, daß die Veränderung der Lebensfunktionen, wie sie mit der Umwandlung in einen Trypanosomenstamm mit chronischem Infektionsverlauf verbunden ist, im gleichen Sinne wirkt wie die oben erwähnte Rezidivstammbildung.

Daß Trypanosomen auch nach nur kurzdauernder Berührung mit einem Chemikale im Tierkörper gegen dieses oder einen anderen Heilstoff fest werden können, ist bereits seit langer Zeit bekannt. Diese sogenannte mutative Festigung (Rapidfestigung) findet sich vor allem nach Behandlung mit gewissen Farbstoffen (Akridin) gegenüber diesen und bestimmten Arsenpräparaten, weiter nach Ehrlich und Gonder bei Behandlung mit gewissen Derivaten der Phenylarsinsäure (Paraoxymetaamidophenylarsenoxyd + Resorzylaldehyd). Bekanntlich hat Ehrlich als Ursache dieser eigentümlichen und praktisch ungemein wichtigen Erscheinung ein längeres Haften des Medikamentes an der beeinflußten Zelle angenommen. Die langsame Einwirkung, wie sie bestimmten Farbstoffen eigentümlich ist, spielt neben dem langen Haften bei der mutativen Festigung vielleicht auch eine Rolle. Daß sie aber nicht allein ausschlaggebend ist, beweist die Rapidfestigung mit Phenylarsinoxyden, die außerordentlich rasch wirken (Vögtlin, Simic u. a.), aber auch haften. Es ist deshalb auch wohl das Richtige, die von Rodenwaldt bei Tieren, die mit Bayer 205 behandelt waren, beobachtete, aber als Folge einer Auslese erklärte Rapidfestigung aus den eben entwickelten Gesichtspunkten aufzufassen. Auslesevorgänge zur Erklärung von Festigungsvorgängen, namentlich von Rapidfestigungen heranzuziehen, ist, worauf schon Morgenroth und Halberstaedter hingewiesen haben, nur da angängig, wo es sich um Gemische von Parasiten mit verschiedener Resistenz gegenüber einem Chemikale handelt. Bei Rapidfestigungen wird nur eine mittlere oder schwache Resistenz erzielt, die schon deshalb nicht in Parallele mit der langsam und systematisch mit steigenden Dosen zu erzielenden maximalen Festigkeit gegen größte von den Wirtstieren ertragene Dosen der Medikamente zu setzen ist. Die Auslese kann bei der an hochempfindlichen Laboratoriumsstämmen zu erzielenden maximalen Festigung aber auch deshalb keine dominante Rolle spielen, weil sie aufs engste verknüpft ist mit der Wirkung des Medikamentes auf die Organzellen des Wirtstieres. Das beweist die Tatsache, daß die maximale Festigung mancher Parasiten gegenüber dem Chemikale geringer wird, sobald diese in einen anderen Wirt gelangen. Ob das mit indirekten

Wirkungen der Chemotherapeutika auf dem Umwege über Antikörper oder durch veränderte Beeinflußbarkeit der Parasiten zu erklären ist, bleibt für die sich hieraus ergebende Schlußfolgerung gleichgültig, daß jedenfalls die Auslesevorgänge bei dieser Art der Rapidfestigung keine Rolle spielen. Als wesentliches Moment des Festigungsvorganges bleibt nur die lange dauernde Einwirkung des Medikamentes auf die Parasitenzelle übrig. Das scheint uns auch aus Beobachtungen hervorzugehen, die von Schnabel bei Bakterien gemacht sind. Wenn es gelingt, Bakterien durch Einwirkung von Medikamenten überempfindlich gegen diese zu machen, dann läßt sich das auf dem Wege der Auslese kaum erklären. Ebensowenig paßt in die letzterwähnte Vorstellung hinein, daß das Präparat Bayer 205 einmal gegen bestimmte Farbstoffe festigt, ein anderes Mal eine schon vorher vorhandene Festigkeit aufhebt.

Um den Festigungsvorgang zu analysieren, ist es notwendig, die Frage der Spezifizität der Festigkeit zu berühren. Es schien anfangs so, als wenn die Festigkeit der Parasiten sich streng gegen die betreffende Substanz und die ihr chemisch nahestehenden Körper richte. Fuchsinfeste Stämme zeigten ihre Resistenz nur gegenüber Tryphenylmethan-, nicht gegenüber Benzidinfarbstoffen; arsenfeste Trypanosomen waren noch durch Triphenylmethan- und Azofarbstoffe zu beeinflussen usw. Ehrlich selbst mußte sich aber sehr bald davon überzeugen, daß es eine strenge Spezifizität der Festigkeit — spezifisch in bezug auf die chemischen Elemente und ihre Verbindungen — nicht gibt. So konnte Antimonfestigkeit in seinen Versuchen nur auf dem Wege über die arsenige Säure oder das Arsenophenylglyzin erreicht werden, andererseits konnten mit Pyroninen, Akridinen und Oxazinen Trypanosomen auch gegenüber Arsenikalien gefestigt werden. Weiter fanden Morgenroth und Rosenthal, daß Tantal, welches die Antimonwirkung auf Trypanosomen aufhob, gleichzeitig die Parasiten gegenüber Antimon zu festigen vermochte. Das Uebergreifen der Festigkeit ist offenbar, wie die nachstehend mitgeteilten Versuche lehren, beim Präparat Bayer 205 noch sehr viel stärker ausgesprochen und läßt sich unter bestimmten Verhältnissen zu einem Zustand steigern, der der „Panfestigkeit“ Ehrlichs nahekommt. Ein solcher panfester Stamm ist früher von Ehrlich und seinen Mitarbeitern erst nach langen Versuchen unter allmählicher Gewöhnung an die einzelnen Chemotherapeutika erzielt worden. Mit Bayer 205 läßt sich eine Art Panfestigkeit nach der verhältnismäßig kurzen Zeit von wenigen Wochen erreichen.

Diese Beobachtungen müssen unseres Erachtens dazu führen, die zum Verständnis der chemotherapeutischen Wirkung dienende Chemozeptorentheorie Ehrlichs daraufhin zu untersuchen, ob sie nach bio-

logischer Richtung oder auf Grund der neueren sogenannten kolloidchemischen Vorstellungen bzw. in bezug auf die Bedeutung des physikalisch-chemischen Verhaltens der Chemotherapeutika im infizierten Körper ergänzt oder erweitert werden muß. Wir möchten aus folgenden Betrachtungen, die die Frage einer etwaigen Abänderung der in der Chemorezeptorentheorie niedergelegten Vorstellungen behandeln, gleich eines vorwegnehmen, daß eine Abänderung des Grundprinzips nicht nötig ist. Der Kernpunkt und das Wesentliche der unmittelbaren bzw. direkten Wirkung der Chemotherapeutika — die für das Prinzip der Abtötung der Parasiten, der Sterilisierung des infizierten Körpers ausschlaggebend ist — ist die auf der Struktur der Moleküle beruhende chemische Verwandtschaft zwischen dem Chemikale und bestimmten lebenswichtigen Bestandteilen der Parasitenzelle einerseits und das Haften, die Verankerung der durch chemische Verwandtschaft oder Affinität an die Parasitenzellen bzw. bestimmte Teile der Zelle gelangten chemischen Substanzen andererseits.

Die Struktur der Moleküle der Chemotherapeutika bestimmt ausschlaggebend ceteris paribus auch deren physikalisch-chemischen bzw. kolloidalen Zustand. Die Arsenoverbindungen z. B. sind kolloidaler als die Arsinoxyde und diese kolloidaler als die Arsinsäuren (H. Bauer). Wenn man also die Verschiedenheit der kolloidalen Eigenschaften dieser chemischen Körper betont oder die Verschiedenheit des chemisch-physikalischen Verhaltens zur Erklärung der verschiedenen Wirkung der genannten Chemotherapeutika heranzieht, so muß man sich bewußt bleiben, daß man meistens nur andere Vorstellungen zur Erklärung des in letzter Instanz struktur-chemisch bedingten Wirkungsmechanismus heranzieht. Darum soll aber die Bedeutung des physikalisch-chemischen Zustandes der in Wasser gelösten Chemotherapeutika und z. B. ihres Dispersitätsgrades in kolloidalen Medien, z. B. in den Körpersäften, nicht unbeachtet gelassen werden.

Die auf Verankerung und Haften der Chemikalien beruhende Abtötung bzw. Schädigung der Parasiten — ebenso wie die auf den gleichen Ursachen beruhende Schädigung und Abtötung der Organzellen durch die Chemotherapeutika — ist allerdings das Ende eines Vorganges, der in Wahrheit von großer Kompliziertheit sein muß. Schon die Betrachtung der Zellstruktur zeigt, daß das Chemikale einer ganzen Reihe verschiedenartigster Einwirkungen unterliegen muß. Nächst der Außenfläche können die zahlreichen Grenzflächen sich geltend machen, die wir uns im protoplasmatischen Wabenwerk denken müssen, weiter diejenigen, die zwischen den einzelnen Protoplasmadifferenzierungen bestehen. Das Cytoplasma ist auch sonst nicht einheitlich zusammengesetzt. Das ergibt sich aus der Granulabildung,

die zuweilen sehr ausgesprochen ist, ferner aus dem Auftreten von Vakuolen. Kern und Bewegungsorganelle haben offenbar einen anderen Aufbau als die übrigen Zellbestandteile, die Hüllschicht verhält sich anders als die tieferen Teile. Wir werden bei der Analyse der Dynamik der Chemotherapeutika auch die physikalischen Kräfte zu berücksichtigen haben, die an den Grenzflächen wirksam sind oder bedingt sind durch das Nebeneinander verschiedener kolloidaler Zustände. Weiter ist zu beachten, daß alle diese Gebilde sich nicht in starrer Ruhe befinden, sondern in physikalischer und chemischer Hinsicht stetigen Zustandsänderungen unterworfen sind, daß an und in ihnen ein regelmäßiger Stoff- und Kraftwechsel vor sich geht. Wenn ferner Voraussetzung für eine chemotherapeutische Wirkung die Fähigkeit des Medikaments ist, an der Parasitenzelle zu haften, so dürften auch hier bezüglich der Intensität und Extensität des Haftens physikalische Faktoren nicht ganz ohne Bedeutung sein. Je nach dem Grade der Dispersität bzw. des kolloidalen Zustandes der Chemotherapeutika, den sie in dem Protoplasma aufweisen einerseits, der Protoplasmateile andererseits, werden sich ceteris paribus die rein chemischen, quoad Wirkung dominanten Prozesse zeitlich und quantitativ verschieden abspielen.

Die Adsorption wird, wie meistens angenommen wird, nicht dominant durch chemische Affinitäten bestimmt, sondern auch durch physikalische Momente bedingt. Es ist denkbar, daß störende Einwirkungen auf die Zelle schon von solchen Stoffen ausgehen können, die nur an der Oberfläche des Parasiten verbleiben.

Daß aber diese rein physikalischen Faktoren, sowohl die von den Parasitenzellen ausgehenden wie die durch die chemische Struktur und demzufolge durch Löslichkeit und Lösungszustand des Medikamentes bedingten, keine ausschlaggebende Rolle bei der Wirkung des Medikamentes spielen, sondern daß die auf chemischen Affinitäten beruhenden festen Bindungen das Entscheidende für die Dynamik der Chemotherapeutika sind, wird vor allem durch die Studien über Vitalfärbungen bewiesen.

Aus den neueren Studien von Goldmann, Höhn, Schulemann, v. Möllendorf u. a. geht zunächst hervor, daß für die Aufnahme der sogenannten Vitalfarbstoffe, der sauren wie der basischen, seitens der Zellen der Grad der Wasserlöslichkeit und die Lipoidlöslichkeit sowie der Lösungszustand maßgebend sind. Während die lipoidlöslichen sauren Farbstoffe in den Zellen in Tröpfchenform abgelagert werden, ohne chemische Bindungen einzugehen, stehen die basischen Farbstoffe mit den sauren Zellgranula in Wechselwirkung. Obwohl also die Vitalfarbstoffe in die Zellen eindringen, dort abgelagert

werden oder zu gewissen Zellteilen Affinität haben, schädigen sie die Zellen nicht. Es erfolgt keine oder nur eine lockere Verankerung an lebenswichtige Zellteile. Die Vitalfarbstoffe werden nach einiger Zeit ausgestoßen, soweit sie in Tröpfchen abgelagert sind. Die mit Zellgranula erfolgten Bindungen wirken, weil die Vitalfarbstoffe nicht fest haften oder an lebenswichtige Teile nicht fest verankert werden, nicht störend oder abtötend auf die Parasitenzellen. Die Vitalfärbungsstudien zeigen lediglich, daß die Fähigkeit des Eindringens in die Parasitenzelle mit der Wasserlöslichkeit, Lipoidlöslichkeit und dem Lösungszustand der Farbstoffe in Verbindung steht. Auch geben sie, wie v. Möllendorf betont, nur über einen Teil des Durchdringungsvorganges und der Speicherung der Vitalfarbstoffe Aufschluß, nämlich über denjenigen, bei dem eine Farbe erhalten bleibt, und können deshalb die Verfolgung der Wirkung von Chemotherapeutika an infizierten Tieren, wobei die Parasiten das feinste Reagens in ihrer Beeinflußbarkeit darstellen, nicht ersetzen. Vitalfärbungsstudien haben für die Chemotherapie nur insofern Bedeutung, als sie die dominante Rolle der chemischen Prozesse der Verankerung bei der Wirkung der Chemotherapeutika indirekt beweisen. Andererseits ist für die Vorstellungen über die Wirkung der Chemotherapeutika auf die Zellen des infizierten Wirtes die durch Vitalfärbungsstudien deutlich erkannte Bedeutung des Lösungszustandes bzw. des Dispersitätsgrades von Wert gewesen.

Die chemotherapeutische Wirkung einer Substanz steht mit dem Durchdringungsvermögen ebenso in Beziehung wie mit ihrem Haften. Bei gleicher Giftigkeit wird derjenige von zwei Körpern eine stärkere Wirkung ausüben, der besser eindringt und besser haftet. Daher kann man mit gut die Zellen durchdringenden und gut haftenden Körpern in kleineren absoluten Dosen Wirkung erzielen. Bei gleichem Durchdringungsvermögen werden ferner diejenigen Substanzen am besten wirken, die maximal verankert werden und lange haften. Fehlt das Haften an lebenswichtigen Zellteilen, ist die Substanz daher ungiftig, so wird auch das stärkste Durchdringungsvermögen nutzlos sein. Hat eine Substanz von geringem Durchdringungsvermögen starke Affinitäten zu lebenswichtigen Teilen und wird sie daher fest verankert, so wird sie trotzdem stark giftig und wirksam sein können. Und endlich werden Substanzen, deren geringer Dispersitätsgrad das Eindringen in die Parasitenzellen verhindert, im allgemeinen auch keine Wirksamkeit haben können. Für das Gesagte bieten sowohl die Erfahrungen mit den Arsenikalien wie auch die mit der Substanz Bayer 205 gute Belege. So sind die Lösungszustände der Arsenobenzole, der Arsinoxyde und der Arsinsäuren wesentlich verschieden. Die Arsenobenzole sind am wenigsten, die Arsinsäuren am stärksten dispers. Zwischen beiden stehen bezüglich des Dispersitätsgrades die Oxyde. Die Arsinsäuren haben nach Vögtlin und seinen Mitarbeitern das stärkste Durchdringungsvermögen, die Arsinoxyde das größte Haftvermögen. Die letzteren wirken in vitro am stärksten direkt abtötend auf die Trypanosomenzellen ein, bei den Arsinsäuren ist diese Wirkung bekanntermaßen gleich null. Auf der anderen Seite ist, wie die eingangs erwähnten Untersuchungen gezeigt haben, bei der Substanz Bayer 205 die in vitro direkt abtötende Wirkung ganz geringfügig, ihre Fähigkeit aber, am Eiweiß zu haften, sehr ausgesprochen. Die Fähigkeit, mit dem Eiweiß Bindungen einzugehen, wird für das Präparat Bayer 205 ganz besonders bewiesen durch die langdauernden Wirkungen der Organsäfte von Tieren, die mit Bayer 205 behandelt sind. Sie hat, wie aus den erwähnten Untersuchungen von Steppuhn, Zeiss und Brychonenko hervorzugehen scheint, sehr interessante und wichtige Veränderungen der Eiweißkörper im Gefolge, ohne daß dadurch, wenigstens bei den größeren Tieren, deren Verwendbarkeit im Lebensprozeß tiefgehend leidet. Solche Bindungen an Eiweiß spielen sicher auch bei anderen chemotherapeutischen Mitteln eine Rolle. Hinsichtlich des Quecksilbers besteht diese Anschauung ja schon lange, und für das Salvarsan ist sie neuerdings von Vögtlin, Dyer und Leonard geäußert und experimentell gestützt worden. Es ist bekannt, wie sehr diese Bindungen durch den sauren oder alkalischen Charakter des einen reagierenden Körpers oder des Milieus beeinflußt werden, und es ergibt sich schon dadurch ein Einblick in die Mannigfaltigkeit der Vorgänge nicht nur im Organismus des Wirtes oder in den Zellkomplexen seiner Organe, sondern auch innerhalb der einzelnen Zellen und damit auch der Protistenzellen.

Ueber die Art, wie die Bindung und Haftung der Medikamente in letzter Instanz zur Schädigung oder Abtötung der Parasitenzellen führt, wissen wir im einzelnen nichts. Es kann eine Störung der Oxydations- und Atmungsvorgänge sein, wie es Vögtlin, Dyer und Leonard für das Wesentliche der Giftwirkung des Salvarsans bzw. Arsens halten, in anderen Fällen eine solche der Nährstoffaufnahme und Assimilation bzw. der Beseitigung von Abfallstoffen. Exakte Untersuchungen liegen darüber nicht vor. Endlich kann man annehmen, daß die molekulare Struktur der kleinsten Protoplasmateile so verändert wird, daß sie zu leben aufhören, also gewissermaßen kleinste der Auflösung verfallende und damit Gifte liefernde nekrotische Protoplasmateile darstellen. Es sei in dieser Beziehung an die abtötende Wirkung der Röntgenstrahlen auf Zellen, an denen sich mikroskopisch zunächst nichts erkennen läßt, verwiesen und auf die Mikrosomenhormontheorie, die Caspari im Anschluß an die Punktwärmetheorie von Dessauer aufgestellt hat. Was für die Parasitenzelle selbst gilt, muß auch für alle übrigen Zellen Geltung haben, mit denen das Medikament in Beziehung tritt. Auch

hier haben wir es mit einer Vielheit von Vorgängen zu tun, deren Endergebnis der Begriff der Organotropie und des Organtodes wiedergibt. Auch hier dürfen wir aber chemische Vorgänge als das schließlich Entscheidende auffassen.

Zum Verständnis und zur Analyse der Arzneifestigkeit, deren Theorie wieder mit derjenigen von der Wirkung der Chemotherapeutika in Beziehung gebracht werden muß, ist nach dem vorhergehenden die Heranziehung eines biologischen Begriffes, nämlich des „Reizes", nicht auszuschalten. Der Begriff „Reiz" ist ja bei der Analyse biologischer Vorgänge vielfach nicht zu entbehren, wenn man sich auch darüber klar sein muß, daß solche Begriffe da gebraucht werden, wo man bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse von den Eiweißkörpern die exakten chemischen Grundlagen für die chemischen oder chemisch-physikalischen Vorgänge, die die Vorbedingung für die Reizbarkeit und die Folgen des Reizes sind, nicht exakt kennt. Man muß sich vor Augen halten, daß Reizbarkeit eine integrierende Eigenschaft lebender Zellen ist, ja daß die Vorstellung vom Leben und der Funktion der Zellen ohne den Begriff des Reizes für uns nicht faßbar ist.

Für die Bedeutung des Reizes liefert einmal die auf der Chemorezeptorentheorie fußende Vorstellung der Verankerung der Chemotherapeutika in lebenswichtige Zellbestandteile Gesichtspunkte. Die zum Funktionsausfall oder zum Untergang bestimmter Zellteile führende Bindung der Chemotherapeutika wirkt als Reiz auf andere Zellteile und deren Funktion. So kann veränderte Funktion dieser Zellteile als Reizfolge entstehen, die Ausfälle deckt oder entgiftende Wirkung ausübt.

Die Einschaltung des Begriffes „Reiz" kann ferner nicht entbehrt werden, wenn wir annehmen, daß die Chemotherapeutika schon bei der Berührung mit den äußersten Protoplasmaschichten zu Abwehrmaßregeln der Zellen führen, um das Chemikale am Eindringen zu hindern, es abzuwehren, eventuell durch Ausstoßung von entgiftenden, weil das Chemikale bindenden Substanzen aus den äußeren Zellschichten. Wenn solche auf den Reiz der Chemotherapeutika erfolgende Abwehrmaßregeln in der Hüllschicht auch bisher bei den pathogenen Parasiten, namentlich den Protozoen, nicht beobachtet sind, so möchte ich doch die von Bresslau zuerst beobachteten Vorgänge, die zur Abwehr der Gifte bei freilebenden, in eine Giftlösung gebrachte Protozoen, Colpodium-Arten und anderen Infusorien führen, kurz erwähnen.

Vorgänge in der Hüllschicht in Gestalt von Ausscheidungen einer Kolloidsubstanz, des Tektins, ließen sich von Bresslau bei diesen Tierchen als Reaktionen auf äußere Einwirkungen durch bestimmte Kunstgriffe dem Auge mit Regelmäßigkeit sichtbar machen. Diesem Tektin kommt nach bisher zum Teil noch unveröffentlichten und noch nicht abgeschlossenen

Versuchen des Autors sehr wahrscheinlich auch eine entgiftende Funktion zu. Es besteht Grund zu der Annahme, daß unter bestimmten Bedingungen eine Ausscheidung der Hüllsubstanz nach außen zwar unterbleibt, daß es aber zur Entmischung des Protoplasmas besonders innerhalb der äußersten Protoplasmaschicht kommen kann. Bresslau glaubt weiter Anhaltspunkte dafür zu haben, daß dieses Tektin, das an und für sich von dem betreffenden Individuum auf jeden wirksamen Reiz hin scheinbar immer in der gleichen Zusammensetzung abgeschieden wird, bis zu einem gewissen Grade spezifische Eigenschaften durch die Verbindung mit dem zu seiner Absonderung führenden Stoff gewinnt, eine Vorstellung, die in ähnlicher Form auf anderem Gebiete von Ehrenberg geäußert worden ist.

Wenn nun auch zunächst noch weitere Untersuchungen über diesen Gegenstand abgewartet werden müssen, so ist doch an der Tatsache der Tektinausscheidung nicht zu zweifeln, und es ist durchaus naheliegend, diesen Vorgang auch mit den Erscheinungen der Festigkeit in Beziehung zu bringen. Zweifelhaft ist vorläufig allerdings, ob etwas Aehnliches bei den einfacher organisierten Protisten nachweisbar sein wird. Auf jeden Fall handelt es sich aber hier um Tatsachen, die einen Einblick in diese sonst schwer faßbaren Vorgänge zu geben vermögen. Daß die Wirkung einer Absonderung in die Hüllschicht stets lediglich im Sinne einer Membranverfestigung und -abdichtung aufzufassen ist, halten wir nicht für wahrscheinlich. Vielmehr spricht unseres Erachtens schon die, wenn auch beschränkte, Spezifität für eine entgiftende Funktion und damit wiederum für die Wirksamkeit chemischer und davon abhängiger physikalisch-chemischer Vorgänge. Sehr wahrscheinlich ist, daß auch hier sehr verschiedene Erscheinungen dem gleichen Zwecke dienen. So wäre beispielsweise denkbar, daß einmal durch eine solche Aenderung in der Beschaffenheit der Außenhaut die Adsorption des betreffenden Chemikales verhindert oder erschwert wird und daß ein andermal schon die Verdichtung der Hüllschicht ausreicht, um wenigstens temporär einen Abschluß der lebenswichtigen Zellteile von den Schädigungen der Außenwelt zu erreichen, während in wieder anderen Fällen die Außenschicht vielleicht gleichzeitig die Fähigkeit entwickelt, die Entgiftung auf chemischem Wege zu vollziehen.

Ein Schutz der lebenswichtigen Zellteile kann möglicherweise auch noch erzielt werden, wenn das Zellgift bereits in das Cytoplasma eingedrungen ist. Vielleicht spielen die Zellgranula und Vakuolen, deren Bedeutung für die Farbstoffspeicherung einerseits, für die Exkretion andererseits ja bekannt ist, hierbei eine Rolle. Es scheint auch nichts der Annahme entgegenzustehen, daß es sich dabei um intrazelluläre Vorgänge handeln kann, die der Tektinausscheidung wesensähnlich sind.

In welcher Weise freilich die zellulären Schutzmittel eine Rolle bei dem Zustande der Festigkeit spielen, den wir unter Umständen als unveränderlichen Besitz zahlloser Parasitengenerationen vorfinden, wissen wir nicht. Die Annahme von funktionellen Veränderungen in der Außenschicht als Folge eines Reizes könnte aber vielleicht zur Erklärung von Tatsachen herangezogen werden, wie z. B. derjenigen, daß es eine Festigkeit gibt, die sich temporär als Begleiterin einer

anderen einstellt. Die Beobachtung, daß Pyronine, Akridine und Oxazine gleichzeitig gegen Arsenikalien festigen, ist möglicherweise faßbar unter dem Gesichtspunkt identischer Funktionen. Im gleichen Sinne könnten die Feststellungen verwertet werden, daß eine Chininfestigkeit bei Gewöhnung an Arsacetin verlorengehen kann, oder daß ein pyroninfester Stamm unter Umständen gegen Arsacetin empfindlich wird, wenn er eine Festigkeit gegen Bayer 205 erwirbt.

Mit der Einschaltung des biologischen Reizbegriffes ließe sich auch eine Hypothese über die Art des Festigungsvorganges in Einklang bringen, die sich an Erklärungsversuche von der elektiven Wirkung der Chemotherapeutika auf die Parasitenzelle durch Vögtlin, Dyer und Miller anschließt. Diese Forscher sehen die Ursache für den Unterschied in der Parasitotropie und Organotropie nicht, wie P. Ehrlich, in Affinitäts- und Aviditätsdifferenzen der Zellteile zu dem Chemikale, sondern in solchen der Funktion. Sie gehen von der schon von P. Ehrlich festgestellten Tatsache aus, daß nur die dreiwertigen Arsenverbindungen die Trypanosomenzelle direkt angreifen, wie sie auch gegenüber den Körperzellen die stärkste Giftwirkung entfalten. Sie nehmen an, daß die Salvarsane im Körper in erster Linie einem Oxydationsprozeß unterworfen werden, der über das hochgiftige und stark wirksame Phenylarsinoxyd (mit dreiwertigem As) zu einem unwirksamen und wenig giftigen Produkt, der Phenylarsinsäure (mit fünfwertigem As), führt. Die Trypanosomen besitzen nun nach ihrer Ansicht nicht oder in geringem Grade die Fähigkeit, aus dem Arsinoxyd die Arsinsäure zu bilden. Im Gegensatz dazu sind die Körperzellen in sehr ausgesprochenem Maße mit der Fähigkeit begabt, das Salvarsan, das längere Zeit in ihnen haftet, zu oxydieren. Ein Teil wird als As-Oxyd abgegeben, d. h. in wirksamer Form, ein anderer wird zum fünfwertigen Produkt oxydiert und somit eines großen Teiles seiner giftigen Eigenschaften beraubt. Die letztere Substanz kann wieder durch Reduktionsvorgänge in die wirksame Form übergeführt werden. Die Parasitotropie der Arsenobenzolderivate wäre nach dieser Hypothese also lediglich der Ausdruck der mangelnden Fähigkeit der Trypanosomen, die Arsinoxyde zu reduzieren.

Auf dem Boden dieser Hypothesen könnte man versuchen, auch den Festigungsvorgang zu erklären. Man würde anzunehmen haben, daß die Parasitenzelle die Fähigkeit zur Entgiftung, also zur Oxydation der dreiwertigen Verbindung erwirbt oder in verstärktem Maße ausbildet, ein Vorgang, der durchaus möglich erscheint. Inwieweit er tatsächlich eintritt, kann nur durch entsprechende exakte Versuche entschieden werden, die noch nicht angestellt sind.

Ueberblicken wir zusammenfassend die im vorhergehenden entwickelten Theorien und Hypothesen, so kommen wir zu der Ueberzeugung: Die von P. Ehrlich begründete Rezeptorentheorie ist auch heute noch die bestbegründete, sowohl zur Erklärung der Dynamik der Chemotherapeutika gegenüber den Parasiten, einschließlich der Festigungsvorgänge, wie der toxischen Wirkung und der Distributionsgesetze und des chemotherapeutischen Index. Auch für das Präparat Bayer 205 trifft das zu. Wenn auch manche der von P. Ehrlich entwickelten Vorstellungen sich nicht als haltbar erwiesen haben, so ist es doch ein dauerndes Verdienst, namentlich in heuristischer Hinsicht, daß aus der Fülle von Einzelergebnissen das Wesentliche und Wichtige herausgegriffen und auf die einfache Formel der chemischen Affinität und Avidität gebracht ist. Die Rezeptorentheorie schließt die Einfügung des Reizbegriffes nicht aus, ja dieser Begriff ist in Ergänzung und zum Verständnis der chemischen Dynamik nötig, um zu einer chemotherapeutischen Dynamik zu gelangen. Mit ihr lassen sich die chemotherapeutischen Prozesse in ihrem Verlauf und in ihren Endeffekten erklären. Daß dabei die chemische Dynamik, beruhend auf der durch Struktur bedingten Affinität und Avidität der chemischen Körper die ausschlaggebende Rolle spielt, hat neuerdings durch die Arbeiten von Vögtlin, Dyer und Leonard eine chemisch greifbare Bestätigung erfahren. Ausgehend von der bekannten Tatsache, daß anorganische und organische dreiwertige Arsenverbindungen mit H_2S und dem hiervon sich ableitenden Sulfhydrylverbindungen sehr leicht in Reaktion nach folgender Gleichung treten:

$$R \cdot As = O + H_2S = R \cdot As = S + H_2O$$

oder

$$As(OH)_2 + 3\,(HS \cdot CH_2 \cdot COOH) = As(SCH_2 \cdot COOH)_2 + 3\,H_2O$$

studierten sie ein von Hopkins aufgefundenes sulfhydrylhaltiges Dipeptid, das Glutathion. Diese in der Hefe vorkommende, Glutaminsäure und Cystein enthaltende Substanz ist bei allen Oxydations- und Reduktionsprozessen der Hefezelle beteiligt und autooxydabel. Die Sulfhydrylgruppe erfährt hierbei eine reversible Veränderung in das Disulfid nach folgender Gleichung:

$$2\,R' \cdot SH \rightleftarrows R' \cdot S - S \cdot R'$$

Die genannten Autoren fanden, daß das Glutathion sowie andere Sulfhydrylverbindungen, wie Thio- und Dithiosalicylsäure, Thioglycolsäure, imstande sind, in vitro und in vivo die trypanozide Fähigkeit und die Giftwirkung der Arsinoxyde auf den Organismus aufzuheben oder stark zu vermindern. Die den Sulfhydrylverbindungen entsprechenden Disulfide ($R' \cdot S - S \cdot R'$) zeigen keine entgiftende oder hemmende Wirung. Da Vögtlin, Dyer und Leonard ferner die Sulfhydrylverbin-

dungen mittels Nitroprusseid in dem Protoplasma der Trypanosomen nachweisen konnten, betrachten sie diese Radikale, im besonderen das Glutathion, als den spezifischen Chemozeptor, die haptophore Gruppe der Trypanosomen für Arsenobenzolderivate.

Wenn man die Chemorezeptorentheorie als Grundlage und heuristisch wertvolle Theorie der Dynamik der Chemotherapeutika betrachtet, so ist die Bahn für die erklärenden und ergänzenden Theorien, namentlich physikalisch-chemischer Natur, frei. Diese sind vielfach, da wir es mit Wechselwirkung von strukturchemisch bekannten Körpern und lebenden, reizbaren Gemischen der verschiedensten, strukturchemisch zum Teil unbekannte Körper enthaltenden Zellen zu tun haben, für den Biologen anregend, klären aber bei dem heutigen Stande der Chemie nicht mehr, setzen vielmehr an die Stelle des „Ignoramus" die biologische Umschreibung von Begriffen, die das „Ignorabimus" kausal verständlich machen sollen.

II.

Gewinnung und Eigenschaften von „Bayer 205"-festen Trypanosomenstämmen.

Von

Frida Leupold.

Die Erscheinungen der Arzneifestigkeit haben bekanntlich P. Ehrlich zu seinen Vorstellungen über die Wirkungsweise der chemotherapeutisch wirksamen Arsen- und Antimonverbindungen sowie der Farbstoffe geführt. Durch Untersuchungen über die Festigung gegen Bayer 205 durften wir deswegen auch Aufklärung über die Wirkungsweise dieses so ungemein interessanten Präparates erwarten.

Die in den nachstehenden Versuchen angewandte Methodik der künstlichen Festigung von Trypanosomen gegen Bayer 205 war die gleiche, deren sich auch schon P. Ehrlich und seine Mitarbeiter bei ihren Versuchen dieser Art bedient hatten. Die Festigung der Trypanosomen gegen Bayer 205 erfolgte nach denselben Grundsätzen, nach denen die Gewinnung arsenfester und farbstofffester Stämme schon früher gelungen war.

Die mit den bestimmten Trypanosomenrassen infizierten Versuchstiere (Mäuse) wurden mit nicht sterilisierenden, sogenannten subtherapeutischen Dosen des Mittels behandelt, die auftretenden Rezidive wurden jedesmal auf frische Tiere weiterverimpft, und durch fortgesetzte Behandlung wurde unter allmählicher Steigerung der Dosen eine Gewöhnung der Trypanosomen an das Mittel bewirkt, bis schließlich die Krankheitserreger selbst durch größtmöglichste Gaben (bis zur Dosis tolerata) nicht mehr zu beeinflussen waren.

Zu den Festigungsversuchen wurden folgende, im Speyer-Hause gehaltene Nagana-Stämme (Tryp. brucei) benutzt:

1) ein Normalstamm (Nagana Prowaz.);

2) ein gegen Tartarus stibiatus gefestigter Stamm (Ausgangsstamm Nagana Prowaz.);

3) ein arsenfester Stamm, maximal fest gegen arsenige Säure (Ausgangsstamm Ferox);

4) ein pyroninfester Stamm, fest gegen Pyronin oder Trypaflavin und gleichzeitig fest gegen Arsenikalien (Ausgangsstamm Ferox).

Stamm 1 ist ein in normalen Mäusen fortgezüchteter Stamm, der sehr empfindlich gegenüber den bekannten Heilstofftypen reagiert und sich relativ schwer gegen alle diese Substanzen festigen läßt. Stamm 2 ist aus demselben Stamm hervorgegangen, nur ist er in langdauernden Gewöhnungsversuchen gegen Tartarus stibiatus gefestigt worden. Stamm 3 nahm seinen Ausgang aus Stamm Ferox (alter Laboratoriumsstamm EHRLICHS), der künstlich gegen Arsenikalien (arsenige Säure) gefestigt ist und endlich Stamm 4 (sogenannter pyronin- oder trypaflavinfester Stamm) entstammt demselben Ausgangsstamm, jedoch ist er gegen Farbstoffe der Pyronin- und Akridinreihe gefestigt. Die beiden Normalstämme Nagana Prowaz. und Ferox verhalten sich „B. 205" gegenüber ungefähr gleich empfindlich, so daß für beide Stämme $^1/_{50\,000}$ g pro 20 g Maus als nicht mehr sterilisierende Dosis, $^1/_{40\,000}$ als Heildosis (rezidivfreie Dauerheilung) gilt. Zu den Festigungsversuchen ist daher nur einer dieser beiden Normalstämme, nämlich Nagana Prowaz. herangezogen worden.

Bei der Prüfung der Stämme bezüglich ihrer Empfindlichkeit gegenüber den verwendeten Chemikalien wurde entsprechend dem von P. EHRLICH geübten Gebrauch die Heildosis bestimmt.

Die folgende Tabelle gibt kurz das Verhalten dieses Normalstammes und der erwähnten drei arzneifesten Stämme gegenüber „B. 205" in der 1. Passage und nach einigen weiteren Passageserien wieder.

Tabelle 1.

Verhalten von normalen und arzneifesten Trypanosomen gegenüber „B. 205".

Stamm	Dosis der 1. Passage		Dosis der 10. Pass.	Dosis der 20. Pass.	Dosis der 30. Pass.	Dosis der 50. Pass.
	rezid. Dosis	steril. Dosis	rezid. Dosis	rezid. Dosis	rezid. Dosis	rezid. Dosis
1) Prowaz. normal	$^1/_{50\,000}$	$^1/_{40\,000}$	$^1/_{20\,000}$	$^1/_{14\,000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{2000}$
2) Tartarus-fest	$^1/_{40\,000}$	$^1/_{35\,000}$	$^1/_{6000}$	$^1/_{3000}$	$^1/_{900}$	$^1/_{175}$
3) Arsen-fest	$^1/_{20\,000}$	$^1/_{14\,000}$	$^1/_{14\,000}$	$^1/_{6000}$	$^1/_{5000}$	$^1/_{800}$
4) Pyronin-fest	$^1/_{20\,000}$	$^1/_{15\,000}$	$^1/_{16\,000}$	$^1/_{2500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{300}$

Vergleicht man die Wirkung von „Bayer 205" auf den Normalstamm 1 und auf die experimentell gefestigten Stämme 2, 3 und 4, so fällt auf, daß schon in der 1. Passage eine erhöhte Resistenz der arzneifesten Stämme gegen das Mittel vorliegt. Während bei dem Normalstamm 1 als nicht mehr sterilisierende Höchstdosis $^1/_{50\,000}$ angewendet werden mußte, $^1/_{40\,000}$ noch sichere Heilung ergab, waren zur Erzielung desselben Effektes bei Stamm 2 (Tartarus-fest) schon Dosen von $^1/_{40\,000}$ resp. $^1/_{35\,000}$ erforderlich, während bei den Stämmen 3 und 4 bereits $^1/_{20\,000}$ nicht mehr sterilisierend wirkte und erst $^1/_{15\,000}$ g eine Dauerheilung herbeiführte. Entsprechend dieser geringeren Empfindlichkeit in der 1. Passage zeigen die festen Stämme auch in den weiteren Passagen eine raschere Anpassung an das Mittel. In der

20. Passage beispielsweise ist der Normalstamm 1 erst gegen die etwa 3fache Dosis gegenüber der Ausgangsdosis fest geworden, während Tartarus- und Pyroninstamm schon von der 10fachen Dosis nicht mehr beeinflußt werden. Infolgedessen ist die Festigung ad maximum mit „B. 205" bei den festen Stämmen 2, 3 und 4 auch in einer kürzeren Zeit und durch eine geringere Anzahl von Passagen möglich gewesen. In der 50. Passage sind diese Stämme nahezu durch die Dosis tolerata oder durch dem Grenzwert schon sehr nahe gerückte Dosen nicht mehr zu beeinflussen, während bei Normalstamm 1 in der gleichen Passage immer noch ein Abstand der eben noch rezidivierenden Dosis von 1 : 13 zur Dosis tolerata besteht. In der 100. Passage ungefähr hat jedoch auch der Normalstamm maximale Festigkeit erreicht, $^1/_{150}$ g „B. 205" ist nicht mehr imstande, den normalen Infektionsverlauf des Stammes zu behindern. Wenn man in Betracht zieht, daß bei den normalempfindlichen Ausgangsstämmen der chemotherapeutische Quotient $\frac{\text{Dosis curativa}}{\text{Dosis tolerata}} = 1:300$ betrug, so ist die Anzahl der Passagen, die nötig waren, um auf das Verhältnis 1 : 1 zu gelangen, keine sehr große. Denn bei früheren Festigungsversuchen, z. B. mit Arsenikalien, konnte häufig erst in 150—200 Passagen maximale Festigkeit erzielt werden, trotzdem es sich hier häufig nur um Ueberwindung eines Abstandes der Dosis curativa zur Dosis tolerata von 1 : 5, bestenfalls 1 : 10 handelte.

War somit erwiesen, daß alle verwendeten Trypanosomenstämme ohne große Mühe an maximale Dosen des Mittels „B. 205" gewöhnt werden können, so ergab der nachstehende Versuch, daß sich eine ebensoweit gehende Festigung gegen das Präparat auch erzielen läßt, wenn nur Trypanblau beim Festigungsvorgang zur Verwendung gelangt. Als Ausgangsstamm diente diesmal Normalstamm Ferox, der, wie erwähnt, das gleiche Verhalten gegenüber „B. 205" zeigt, wie Stamm Prowazek 1. Gewöhnt man diesen Normalstamm an Trypanblau derart, daß man die Dosen von der anfänglich $^1/_{500}$ betragenden chemotherapeutischen bis auf $^1/_{300}$ der gerade noch ertragenen bei den aus den Rezidiven gewonnenen Trypanosomentieren steigert, was schon in 10—12 Passagen gelingt, so zeigt sich, daß dieser nun trypanblaufest gewordene Stamm auch gleichzeitig eine absolute Festigkeit gegen das früher stark wirkende „B. 205" aufweist. Nach den wenigen Trypanblaupassagen beeinflußt nunmehr die Dosis tolerata 1 : 150 von „B. 205" den Verlauf des trypanblaufesten Trypanosomenstammes in keiner Weise, so daß man nach diesem Beispiel sagen kann, daß schon allein Trypanblaufestigkeit gleichzeitig eine absolute, fast mit einem Schlage erworbene „Bayer 205"-Festigkeit auslöst.

Tabelle 2.

Absolute „Bayer 205“-Festigkeit nach 10 Trypanblaupassagen.

8 Mäuse infiziert mit blaufestem Trypanosomenstamm; behandelt mit steigender Dosis von „B. 205“.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
Passage 1)	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.
„ 2)	+ w	+ w	+ w	+ w	+ w	+ w	+ w	+ w
„ 3)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	B. $^1/_{20\,000}$	B. $^1/_{10\,000}$	B. $^1/_{8000}$	B. $^1/_{2000}$	B. $^1/_{1000}$	B. $^1/_{500}$	B. $^1/_{150}$	B. $^1/_{150}$
„ 4)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
„ 5)	tot	tot	tot	tot	tot	tot	tot	tot

In der ersten Versuchsreihe war festgestellt worden, daß Trypanosomen, die gegen arsenige Säure, Brechweinstein und Pyronin (bzw. Trypaflavin) gefestigt waren, durch „B. 205“ zwar mit Sicherheit beeinflußt wurden, daß sie aber gegenüber dem Mittel resistenter waren als Normalstämme der gleichen Art und zweifellos auch gegen „B. 205“ schneller unempfindlich wurden als diese. Es konnte aus diesem Verhalten schon auf Aehnlichkeiten der Chemorezeptoren und damit auf solche in der Wirkungsweise geschlossen werden. Um diese Annahme noch weiter zu stützen, wurde umgekeht der „B. 205“-feste Stamm [Ausgangsstamm Normalstamm 1] gegen eine Reihe anderer schon bekannter Heilstofftypen ausgewertet.

Tabelle 3.

Verhalten des normalen und B. 205-festen Stammes gegen:

Stamm	Arsacetin		Trypaflavin		Neosalvarsan		Tartarus	
	rez. Dosis	heil. Dosis	rez. Dosis	heil. Dosis	rez. Dosis	heil. Dosis	rez. Dosis	heil. Dosis
1 a Prowaz. norm.	$^1/_{1000}$	$^1/_{800}$	$^1/_{10\,000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{10\,000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{6000}$
1 b Prowaz. „B. 205“-fest	$^1/_{600}$	$^1/_{400}$	$^1/_{6000}$	$^1/_{4000}$	$^1/_{10\,000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{8000}$	$^1/_{6000}$

Normalstamm 1 a ist durch Arsacetin $^1/_{800}$ zu heilen, bei dem nun gegen „B. 205“ gefestigten Stamm 1 b gelingt die Heilung aber erst mit der doppelten Dosis $^1/_{400}$. Aehnlich ist das Verhalten bei Trypaflavin: der „B. 205“-feste Stamm bedarf der doppelten Dosis ($^1/_{4000}$) zur Heilung, während der Ausgangsstamm noch durch $^1/_{8000}$ wirksam beeinflußt wird. In beiden Fällen ist also eine Herabminderung der Empfindlichkeit des „B. 205“-festen Stammes zu Arsacetin und Trypaflavin erfolgt, was auf eine Identität der Angriffspunkte dieser Stoffe schließen läßt. Hingegen verhalten sich beide Stämme dem Neosalvarsan gegenüber gleich. Es war nun noch weiter zu prüfen, wie die arsen-, antimon- und trypaflavinfesten Stämme sich nach erfolgter Festigung gegen „B. 205“ gegenüber den Mitteln verhielten, gegen die sich die primäre Festigkeit gerichtet hatte. Es ergab sich, daß das Verhalten sowohl des gegen Tartarus stib. wie auch des gegen arsenige Säure gefestigten Stammes trotz langer Einwirkung von „B. 205“ gegenüber Brechweinstein bzw. arsenige Säure sich nicht geändert hatte.

Stamm 4 jedoch, ehemals trypaflavin- und arsenfest, hatte eine Abänderung erfahren und war nun durch Trypaflavin bis zu einem gewissen Grade und durch Arsacetin deutlich zu beeinflussen.

Tabelle 4.

Tartarusfester Stamm 2 Dosis toler. Tartarus stib. $^1/_{2000}$	Arsenige Säure-fester Stamm 3 Dosis toler. arsenige Säure $^1/_{6000}$	Pyroninfester Stamm 4	
		Dosis toler. Pyronin $^1/_{2500}$	Dosis toler. Arsacetin $^1/_{40}$
Vor „B. 205“-Behandlung:	Vor „B. 205“-Behandlung:	Vor „B. 205“-Behandlung:	Vor „B. 205“-Behandlung:
inf. tartarusfester Stamm	inf. arsenige Säure Stamm 3	inf. Pyronin-Stamm 4	inf. Pyronin Stamm 4
+ w	+ w	+ w	+ w
Tartarus stib. $^1/_{4000}$	arsenige Säure $^1/_{6000}$	Trypaflavin $^1/_{2500}$	Arsacetin $^1/_{40}$
—	+	+	+
+ w	+++	+++	+++
+++	+++	+++	tot
	tot	tot	
Nach „B. 205“-Behandlung:	Nach „B. 205“ Behandlung:	Nach „B. 205“-Behandlung:	Nach B. 205“-Behandlung:
inf. tartarus- u. bayerfester Stamm	inf. arsen- u. „B. 205“-fester Stamm	inf. pyronin- u. bayerfester Stamm	inf. pyronin- u. bayerfester Stamm
+ w	+ w	+ w	+ w + w + w + w
Tartarus stib. $^1/_{4000}$	arsenige Säure $^1/_{6000}$	Trypaflavin $^1/_{2500}$	Arsacet. $^1/_{40}$ $^1/_{80}$ $^1/_{200}$ $^1/_{500}$
—	—	—	— — — —
—	—	—	— — — —
—	+ w	—	— — — —
+ w	++	—	— — — —
+++	+++	— s	— — — —
tot	tot	+ w	— — — —
		++	— — — —
		+++	— — — —
		+++	— — — —
		tot	geheilt — — —

Rubrik IV der Tabelle zeigt, daß der früher gegen die maximalste Dosis von Arsacetin (= $^1/_{40}$) fester Pyroninstamm nach seiner Gewöhnung an „B. 205“ seine Festigkeit gegenüber Arsacetin vollkommen eingebüßt hat.

Wir haben es hier mit einer durch Einwirkung des „B. 205“ erfolgten biologischen Umbildung zu tun, wie Ritz sie bei Rezidivstammbildung, Gonder bei der Uebertragung arsenfester Rattentrypanosomen durch die Rattenlaus gefunden haben. Ein derartiger Verlust der Arzneifestigkeit durch Behandlung mit einem anderen Medikament, wie es hier offenbar zutage tritt, wurde erstmals wohl von Nocht und Werner bei der Behandlung chininfester Malariafälle mit Salvarsan, das ein Verschwinden der Chininresistenz der Plasmodien bewirkte, beobachtet. Bei Trypanosomen ist schon früher von Morgenroth und Rosenthal das Phänomen beschrieben worden.

Im Verlaufe dieser Festigungsversuche war weiterhin zu beobachten, daß die in „B. 205“ behandelten Versuchstiere im Anfang der Behandlung eine Neigung zu chronischem Infektionsverlauf zeigten (s. Tab. 5).

Es kam zu sogenannten Spontanrezidiven, die bis zu 9mal in einer Maus auftraten, sich von selbst wieder zurückbildeten, bis die Tiere dann schließlich doch der Infektion erlagen. Eine derartige Mitigation der Trypanosomen ist früher schon bei Präparaten aus der Reihe des Triphenylmethans — dem Tryparosan —, des Diphenylmethans — dem Trypaflavin — und des Diphenylamins — dem Oxazin — beobachtet worden.

Tabelle 5.

Chronischer Verlauf einer Trypanosomeninfektion (Stamm 4) nach der 15. Festigungspassage mit Bayer 205.

Tage	infiziert	Tage	infiziert	Tage	infiziert	Tage	infiziert
1	—	28	—	55	+ ws	82	—
2	—	29	—	56	—	83	—
3	+ sw	30	—	57	—	84	—
4	+++	31	+ w	58	+++	85	—
5	+++	32	+ sw	59	+++	86	+
6	—	33	—	60	—	87	+ s
7	—	34	+ sw	61	—	88	—
8	—	35	—	62	—	89	—
9	—	36	+	63	—	90	—
10	+ sw	37	+	64	—	91	—
11	—	38	+++	65	—	92	—
12	+	39	+++	66	—	93	—
13	+++	40	—	67	—	94	—
14	—	41	—	68	—	95	+ sw
15	—	42	—	69	—	96	—
16	—	43	—	70	—	97	+++
17	—	44	—	71	—	98	—
18	+ w	45	—	72	—	99	—
19	+	46	+ w	73	—	100	—
20	++	47	+ sw	74	—	101	—
21	—	48	—	75	—	102	—
22	—	49	—	76	—	103	—
23	—	50	—	77	—	104	—
24	—	51	+ sw	78	—	105	—
25	—	52	+ sw	79	—		usw.
26	+ w	53	+ w	80	—		
27	+ sw	54	+++	81	—		

Die gegen „B. 205“ gefestigten Trypanosomenstämme haben in ca. 60 Passagen durch normale unbehandelte Mäuse ihre Festigkeit beibehalten.

Zusammenfassung.

1) Eine Festigkeit von Trypanosomen, die ursprünglich gegen „Bayer 205“ hochempfindlich waren, gegenüber dem Medikament ist mit Leichtigkeit zu erzielen, wenn man infizierte Tiere mit unterschwelligen Dosen behandelt und zur Gewöhnung an höhere Dosen die Trypanosomen aus den entstandenen Rezidiven abimpft.

2) Trypanosomen, die gegen arsenige Säure, Brechweinstein, Trypaflavin gefestigt sind, werden von „Bayer 205“ weniger stark beeinflußt als normale Stämme. Sie lassen sich auch schneller als normale

gegen das Mittel festigen. Es kann hieraus auf Verwandtschaft in der Wirkungsweise des Mittels und des Angriffspunktes in der Parasitenzelle geschlossen werden.

3) Festigung gegen Trypanblau hatte auch eine völlige Festigkeit gegenüber „Bayer 205“ zur Folge.

4) Ein gegen Trypaflavin und damit auch gegen Arsenikalien gefestigter Stamm verlor durch Festigung gegen „Bayer 205“ seine Unempfindlichkeit gegenüber Arsacetin und war auch durch Trypaflavin etwas besser zu beeinflussen als vorher.

5) Bei Behandlung von naganakranken Tieren mit „Bayer 205“ erfuhren akut tödlich wirkende Stämme vielfach eine Virulenzverminderung, was zu einem chronischen Infektionsverlauf mit einzelnen wohlgetrennten Anfällen führte.

6) Die Schnelligkeit, mit der eine Festigung eintritt, die Neigung zu chronisch rezidivierendem Verlauf erlaubt einen Vergleich mit der Wirkung und den Angriffspunkten der Di- und Triphenylmethanfarbstoffe und der Benzidinfarbstoffe.

III.

Untersuchungen über die Festigung von Tsetsetrypanosomen gegen Bayer 205 und Arsenikalien [1]).

Von

W. A. Collier.

Die Versuche, über die nachstehend berichtet wird, sind begonnen mit der Absicht, festzustellen, ob eine Festigung gegen Bayer 205 sich überhaupt erzielen läßt. Die Möglichkeit einer solchen Festigung war von MAYER und ZEISS zunächst geleugnet, später aber von MAYER zugegeben worden. Beobachtungen bei Behandlungsversuchen haben PFEILER veranlaßt, ihr Vorkommen in Betracht zu ziehen. In gleichem Sinne haben sich später KLEINE und FISCHER geäußert. Experimentelle Untersuchungen über den gleichen Gegenstand sind dann noch von RODENWALDT und DOUWES sowie von MORGENROTH und FREUND veröffentlicht worden. Bei Abschluß meiner Arbeit waren nur die erwähnten Angaben von MAYER und ZEISS bzw. MAYER bekannt.

Der von mir verwendete Naganastamm „Schilling" tötet bei intraperitonealer Einverleibung Mäuse in 3—4 Tagen. Die Festigung der Trypanosomen wurde folgendermaßen vorgenommen: Eine Serie von Mäusen wurden mit Trypanosomen infiziert und am nächsten Tage, wenn sich im Gesichtsfelde 1—5 Parasiten fanden, mit verschieden großen Dosen von Bayer 205 behandelt. Von diesen Mäusen wurde dann dasjenige Tier ausgewählt, bei dem keinerlei Beeinflussung des Infektionsverlaufes durch das Heilmittel festzustellen war. Dieses Tier wurde entblutet, und mit der Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung wurde eine neue Reihe von Mäusen infiziert, die nun ihrerseits mit etwas höheren Dosen behandelt wurden. Die Behandlung erfolgte stets so, daß das Mittel in 0,85-proz. Kochsalzlösung gelöst und in einer Dosis von 1 ccm auf 20 g Körpergewicht der Maus injiziert wurde. Zwischen den behandelten Passagen lagen einzelne unbehandelte, um eine Summierung etwa noch eingetretener schwacher Wirkungen zu vermeiden. Auf diese Weise gelang es zunächst, die Trypanosomen gegen Bayer 205 so weit zu festigen, daß 1 ccm einer Verdünnung 1 : 1000 auf 20 g Körpergewicht keinerlei Einfluß auf den Verlauf der Infektion hatte, diese vielmehr genau ebenso wie eine unbehandelte Kontrollinfektion verlief, während der Ausgangsstamm noch durch eine Verdünnung von 1 : 100000 deutlich beeinflußt wurde.

1) Abgeschlossen Dezember 1922.

Zur Verwendung gelangten bei diesem Versuch wegen Tiermangels keine normalen Mäuse, sondern solche, die vorher zu Toxizitätsprüfungen von Salvarsanpräparaten benutzt worden waren, d. h. die Mäuse hatten einige Zeit vorher die Dosis tolerata von Altsalvarsan und Neosalvarsan intravenös erhalten, und zwar entweder Altsalvarsan in einer einmaligen Dosis von 0,5 ccm einer Verdünnung von 1 : 150 auf je 20 g Körpergewicht, oder Neosalvarsan in einer Einzeldosis von 1 ccm einer Verdünnung von 1 : 120 (in NaCl-Lösung) auf je 20 g Körpergewicht bzw. 0,5 ccm einer Verdünnung 1 : 68 (in Aqua dest.). Die überlebenden Tiere kamen ungefähr 1—5 Wochen nach der Prüfung zur Verwendung.

Die Festigung der Trypanosomen bis 1 : 1000 wurde bei diesen Mäusen in 28 Passagen, unter denen sich 15 behandelte und 13 unbehandelte befanden, bereits nach 80 Tagen erzielt. Wie sich später herausstellte, war der benutzte Stamm tatsächlich auch fest gegenüber einer Konzentration von 1 : 700.

Ich habe dann weiter festgestellt, wie der bayerfeste Stamm sich gegenüber anderen Medikamenten verhielt. Die Prüfung erstreckte sich auf Arsacetin, arsenige Säure, Arsenophenylglycin, Neosalvarsan, Tartarus stibiatus, Trypoflavin, Trypanblau und Parafuchsin.

Abweichend von der in unserem Institut angewendeten Methodik wurde in Anlehnung an Versuche von KOLMER und seinen Mitarbeitern nicht die Heildosis bestimmt, sondern die maximale nicht mehr beeinflussende Dosis. Dies hat den Vorteil, daß sich das Ergebnis bereits nach sehr kurzer Zeit überblicken läßt, während die Bestimmung der Heildosis zeitraubender und kostspieliger ist.

Es zeigte sich, daß die gegen Bayer 205 festgewordenen Trypanosomen auch gegenüber den obengenannten Chemikalien eine größere oder geringere Festigkeit in vivo aufwiesen (vgl. Tabelle).

Tabelle.

	Maximale nicht mehr beeinflussende Dosis	
	Normalstamm	bayerfester Stamm
Arsacetin iv.	1 : 1000	1 : 25
Arsenige Säure subk. . . .	ca. 1 : 10 000	ca. 1 : 6000
Arsenophenylglycin iv. . .	1 : 2800	1 : 1500
Neosalvarsan iv.	ca. 1 : 8000	1 : 300
Tartarus stibiatus subk. . .	1 : 16 000—18 000	1 : 4000—6000
Trypoflavin iv.	1 : 20 000	ca. 1 : 2000
Trypanblau iv.	1 : 1000—1600	1 : 350—500
Parafuchsin iv.	ca. 1 : 12 000	ca. 1 : 9000
„ subk.	ca. 1 : 10 000	ca. 1 : 5000

In der vorstehenden Tabelle sind also die eingetragenen Werte, wie ausdrücklich betont sei, nicht die Heilwerte, sondern die Dosen

bei deren Verwendung eine Beeinflussung des natürlichen Infektionsverlaufes gegenüber den unbehandelten Kontrollen nicht mehr eintritt. Um einwandfreie Vergleichsergebnisse zu erhalten, wurde zur Kontrolle die Prüfung des Normalstammes ebenfalls in Mäusen vorgenommen, die zur Bestimmung der Toxizität von Alt- und Neosalvarsan Verwendung gefunden hatten. Es zeigte sich, daß dabei keine völlig scharfen Grenzwerte erhältlich waren. Das bedurfte der Aufklärung.

Ein Vergleich mit den Ergebnissen der von Fräulein F. Leupold angestellten, ebenfalls auf Bayer 205 sich erstreckenden Festigungsversuche ergab, daß die Resultate in bezug auf die übergreifende Festigkeit, z. B. gegenüber Arsacetin, zwar prinzipiell übereinstimmten, daß aber gewisse Differenzen vorlagen, die besonders hinsichtlich des Neosalvarsans zutage treten (vgl. die Arbeit von F. Leupold).

Als Ursache dieser Abweichungen konnten zunächst Verschiedenheiten der verwendeten Trypanosomenstämme angesehen werden. Es wies aber manches darauf hin, daß der Grund in den Versuchstieren zu suchen sei. Gerade die Tatsache, daß eine bedeutend höhere Festigkeit gegenüber den Arsenikalien vorlag, sprach dafür, daß die Vorbehandlung mit den Arsenobenzolen für die erhöhte Arsenfestigkeit verantwortlich gemacht werden mußte.

Kudicke und Mayer (ined.) hatten bereits bei anders gerichteten Untersuchungen beobachtet, daß die Vorbehandlung von Mäusen mit maximalen Neosalvarsandosen den Ablauf einer mit Trypanosoma Brucei einige Zeit später gesetzten Infektion vielfach und in sehr eigentümlicher Weise beeinflußte; zuweilen kam es nur zu einer Verlängerung des Infektionsverlaufes, in anderen Fällen zur Ausbildung sogenannter chronischer Stämme. Auffallend war, daß bei einzelnen der letzteren Tiere die Trypanosomen sich zunächst in gleicher Weise wie bei der Kontrolle vermehrten, dann aber wieder verschwanden und erst nach einer Reihe von Tagen aufs neue im Blute erschienen. Diese Tatsache wurde so gedeutet, daß zum Teil noch Arsen im Körper gebunden ist und erst durch die Infektion bzw. durch die Begleiterscheinungen derselben mobilisiert wird, zum Teil aber auch noch in wirksamer Form im Körper kreist. So schien es auch verständlich, warum es mir, wie oben erwähnt, bei Prüfung des Normalstammes nicht gelang, scharfe Grenzwerte zu erhalten.

Bei einer von mir vorgenommenen Wiederholung dieser Versuche konnte ich diese Befunde durchaus bestätigen.

Ein dem normalen völlig entsprechender Verlauf der Infektion tritt bei Tieren, die maximale Altsalvarsandosen erhalten haben, erst dann ein, wenn ein Zeitraum von mindestens 23 Tagen zwischen der ersten Einverleibung des Arsenikales und der Infektion verstrichen ist. Ist der Zwischenraum geringer, d. h. etwa 9—15 Tage, so kommt es zu den erwähnten Abweichungen im Infektionsverlauf. In ganz ähnlicher Weise wird der Infektionsverlauf auch durch Vorbehandlung mit maximalen Neosalvarsandosen beeinflußt, doch ist die Wirkung des Medikamentes hier bereits nach 14 Tagen nicht mehr erkennbar.

Es darf somit als erwiesen angesehen werden, daß nach großen Dosen von Altsalvarsan und Neosalvarsan nach Abklingen der eigentlichen Schutzwirkung einige Zeit ein Zustand besteht, durch den die spätere Infektion mit hochvirulenten Stämmen in deutlicher Weise abgeändert wird, und zwar derart, daß entweder die Inkubationszeit verlängert wird, daß der Eintritt des Todes hinausgeschoben wird oder daß chronische bzw. abgeschwächte Stämme gebildet werden, d. h. solche, bei denen die Trypanosomen in mehreren, durch kürzere oder längere Intervalle getrennten Anfällen im Blut erscheinen. Es läßt sich weiter schließen, daß diese Beeinflussung nicht nur stattfindet, wenn das Salvarsan noch in wirksamer Form im Körper kreist, sondern auch dann, wenn es an Zellen gebunden ist. Im letzteren Fall kann es durch den Krankheitsprozeß mobilisiert werden.

Es war nach dem Mitgeteilten mit Sicherheit anzunehmen, daß in dem oben mitgeteilten Festigungsversuch wenigstens bei einem Teil der Mäuse, in denen der bayerfeste Stamm während seiner Festigung gehalten war, die Trypanosomen nicht nur unter der Einwirkung von Bayer 205 gestanden hatten, sondern gleichzeitig unter der Einwirkung der den Mäusen vorher einverleibten Salvarsanpräparate bzw. ihrer Umwandlungsprodukte. Es war also zu prüfen, inwieweit die Passage durch solche mit Arsenobenzolen vorbehandelte Mäuse allein imstande war, eine Festigung gegen Arsenikalien zu erzielen. Der Versuch ergab, daß schon 40 Passagen in solchen Mäusen genügten, um eine erhöhte Resistenz gegenüber Neosalvarsan zu erzielen. Allerdings war diese Resistenz nicht so ausgesprochen, wie bei dem bayerfesten Stamm. Man muß also annehmen, daß auch die relativ geringfügigen Arsenmengen, die längere Zeit nach der Einverleibung von großen Salvarsandosen in irgendwelcher Form im Körper kreisen oder irgendwie an die Organe gebunden sind, die Trypanosomen zwar in ihrer Virulenz beeinflussen können, sie gleichzeitig aber auch in geringem Maße zu festigen vermögen. Es hat den Anschein, als ob der letztere Vorgang durch eine gleichzeitige Behandlung mit Bayer 205 begünstigt würde.

Von praktischem Interesse dürften auch die Schlußfolgerungen sein, die sich aus den mitgeteilten Versuchen mit Arsenikalien ziehen lassen. Hier tritt uns die wichtige Tatsache entgegen, daß nach maximalen Gaben von Salvarsanen diese oder ihre Umwandlungsprodukte in Mengen, die zur Verhinderung der Infektion oder Abtötung der Trypanosomen nicht genügen, im Tierkörper noch längere Zeit entweder im Blute kreisen oder in den Zellen als Depots abgelagert sein können. Vielleicht werden sie infolge einer sich in dieser Zeit entwickelnden Infektion oder aus irgendwelchen anderen Gründen mobil gemacht.

Auf diese Weise kommen Arsenikalien in geringen Mengen auf die Parasitenzellen zur Einwirkung und können eine Festigung derselben hervorrufen, falls nicht durch eine erneute Injektion die im Körper vorhandene wirksame Menge des Medikaments bis zu einer Konzentration gesteigert wird, in der sie eine völlige Abtötung, sei es direkt, sei es durch Entwicklungshemmung, hervorrufen kann. Kann es somit bereits bei großen Dosen unter Umständen zu einem für den Heilungsverlauf nicht besonders günstigen Zustand kommen, so ist anzunehmen, daß bei Anwendung kleiner und verzettelter Dosen eine solche ungünstige Auswirkung erst recht eintritt, weil hier die wirksame Konzentration erst nach längerer Zeit erreicht wird.

Wenn auch die Beobachtungen an Trypanosomen nicht ohne weiteres auf Spirochäten übertragen werden können, vor allem nicht auf die Spirochaeta pallida, so dürfte doch der Hinweis nicht überflüssig sein, daß eine Behandlung mit häufig wiederholten, relativ kleinen Salvarsandosen, wie sie heute noch vielfach geübt wird, anscheinend zwar den gleichen Effekt wie eine solche mit großen Dosen haben kann, indem die Parasiten schließlich doch noch vernichtet werden. Man darf jedoch die Gefahr nicht unterschätzen, daß bei einer derartigen Dosierung lediglich eine Entwicklungshemmung erreicht wird und vielleicht gleichzeitig eine gewisse Gewöhnung der Parasiten an das Heilmittel.

Es lassen sich die mitgeteilten Versuche dahin zusammenfassen:

1) Eine Festigung von Nagana in Mäusen gegen Bayer 205 ist innerhalb kurzer Zeit möglich.

2) Durch Festigung gegen Bayer 205 in Mäusen, die mit großen Dosen von Arsenobenzolderivaten vorbehandelt worden sind, lassen sich Stämme erzielen, die zugleich mehr oder weniger fest sind gegen Arsenikalien, Antimon, Triphenylmethanfarbstoffe, Azofarbstoffe und Akridinfarbstoffe.

3) Gegen Arsenikalien lassen sich Trypanosomen auch festigen, wenn sie in Mäusen gehalten werden, die einige Zeit vorher mit großen Dosen von Arsenobenzolen intravenös vorbehandelt worden sind.

4) Da das Präparat Bayer 205 sehr lange im Blute kreist, muß nach dem oben Dargelegten mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß sich früher oder später ein Zustand herausbildet, wo zwar noch wirksame Substanz im Körper vorhanden ist, ihre Konzentration aber nicht ausreicht, um sich entwickelnde Trypanosomen abzutöten. Das ist ebenso wichtig für die Anwendung des Mittels als Prophylaktikum, wie es bei der Wahl der Dosen im Heilverfahren zu beachten ist.

Nachtrag bei der Korrektur.

Nach Fertigstellung der Arbeit wurde mir folgende Arbeit bekannt, in der ebenfalls von einer Festigung in mit Arsenobenzolen vorbehandelten Tieren berichtet wird: Vögtlin, C. und Smith, H. W., Quantitative studies in Chemotherapy. II. The trypanocidal action of arsenic compounds. Il. Pharm. a. exp. therap. 15. Bd., 1920, S. 475 und: Vögtlin, C., Dyer, H. A. und Miller, D. W., On drug-resistance of trypanosomes with particular reference to arsenic. Il Pharm. a. exp. therap. 23. Bd., 1924, S. 54.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 5232