

Nach den Ergebnissen von *Bell* und *Roblin* wurde von *Klotz* für Colibazillen  $f = 0,3$  gefunden.

Auf Grund desselben Gedankenganges kann auch der Wert der p-Aminobenzoesäure-Interferenz errechnet werden. Hier ist aber ein Verhältnis PA:PS (A = p-Aminobenzoesäure) anzunehmen, bei dem die Hemmung beginnt bzw. die Entwicklung einsetzt. Auch von diesem Zusammenhang gilt der auf S. 85 angegebene Gleichgewichtszustand.

## VI. Kapitel.

### Mechanismus der therapeutischen Sulfanilamidwirkung.

#### 1. Kommt die bakteriostatische Wirkung im Organismus zur Geltung?

In der Einleitung wurde schon erwähnt, dass die Frühversuche mit der Chemotherapie der bakteriellen Infektionen scheiterten, weil die antibiotischen Eigenschaften der *in vitro* wirksamen Verbindungen im tierischen Organismus nicht zur Geltung gelangten. Die Sublimatwirkung wird von den Eiweisskörpern des Serums — wahrscheinlich im Wege einer Komplexbildung — herabgesetzt, überdies wird die desinfizierende Fähigkeit des Quecksilberions von den Sulfhydrylverbindungen, z. B. dem Glutathion, beeinträchtigt (*Fildes*<sup>25</sup>). Die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide ist *in vitro* im Vergleich mit anderen Benzolderivaten ausserordentlich stark (s. Tabelle 36), so dass eine ähnliche Wirkung nur von den ziemlich toxischen Chinonen entfaltet wird. Es bleibt aber noch fraglich, ob die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide im Organismus zur Geltung kommt.

Im III. Kapitel wurde darauf hingewiesen, dass die bakteriostatische Wirksamkeit der Sulfanilamide auch in eiweisshaltigen Nährböden (Serum, Liquor) nachgewiesen werden kann; desgleichen im Urin, obwohl hier die Wirkung etwas schwächer ist als in den synthetischen Nährböden. Die Antwort auf die Frage ist deshalb schwer, weil die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide im Blute gewisser Versuchstiere (Kaninchen, Maus) erheblich weniger als im Menschenblut zur Geltung kommt, obzwar die Infektionen dieser Tiere mit den Sulfanilamiden sehr günstig beeinflusst werden können. Die unter entsprechenden Bedingungen angestellten Versuche haben dennoch bewiesen, dass die bakteriostatischen Eigenschaften der Sulfanilamide sich auch im Kaninchenblut offenbaren, allerdings ist die Wirkung hier nicht so anhaltend wie im Menschenblute. So fand z. B. *Schmith*,<sup>328</sup> dass in dem mit Pneumokokken beimpften, 1:5.000 Sulfapyridin enthaltenden Kaninchenserum, — dessen bestimmte Menge zu Anfang des Versuches 41 Kokken enthielt, — die Kokken sich langsamer vermehrten als in den Kontrollkulturen. In der Aussaat der sulfanilamidhaltigen Röhre entwickelten sich selbst *in der 12. Stunde* bloss 762 Kolonien. Von nun an nahm aber die Zahl der Kokken rapid zu. Dagegen waren in der Kontrollkultur, die nur Serum enthielt, schon *in der 4. Stunde* 2.000 Kokken vorhanden; ihre Zahl

nahm schon zu dieser Zeit mächtig zu, und von der 6. Stunde an konnten die Keime nicht mehr gezählt werden. In einem mit Menschenserum unter vollkommen identischen Bedingungen ausgeführten Versuch wiesen die Kokken in den sulfapyridinhaltigen Kulturen anfangs eine geringfügige, vorübergehende Entwicklung auf, bald aber nahm ihre Zahl ab, und nach 14 Stunden konnte in der Kultur kein einziger lebender Coccus mehr nachgewiesen werden. Andere Versuche sprechen dafür, dass das Sulfanilamid unter gewissen Umständen auch im Mäuseblut bakteriostatisch wirkt. *Fuller, Colebrook* und *Maxted*<sup>118</sup> fanden im Mäuseblut verschiedene bakteriostatische Wirkungen des Sulfanilamid je nachdem, ob die Wirkung im defibrinierten, Heparinblut, Plasma oder Serum untersucht wurde. Im Serum und im Heparinblut wirkte 10 mg % Sulfanilamid schon bakteriostatisch, dagegen war diese Konzentration im defibrinierten Blut unwirksam. Zur Erklärung dieser Unterschiede nehmen die Verfasser einen Stoff des Mäuseorganismus an, der die Sulfanilamidwirkung hemme. Wenn nun die Reagenzglasversuche in Abhängigkeit von der Art der Blutgewinnung solche Unterschiede aufweisen, wird mit Recht die Frage erhoben, ob aus diesen Versuchen Rückschlüsse auf die im Organismus herrschenden Verhältnisse überhaupt zulässig sind, zumal dieser hochgradigen Beeinflussung der Reagenzglasversuche vielleicht ein im Laufe der Blutentnahme entstehendes Kunstprodukt zugrunde liegen kann.

Es sind daher diese im allgemeinen negativ ausgefallenen Versuche erheblich weniger beachtenswert als jene, welche die bakteriostatische Wirkung des Sulfanilamid im Mäuse- und Kaninchenorganismus unmittelbar bewiesen haben. *Domagk*<sup>76</sup> beobachtete bei der Untersuchung der Bauchhöhle von Mäusen, die mit Streptokokken intraperitoneal infiziert und zum Teil behandelt wurden, schon nach wenigen Stunden erhebliche Unterschiede zwischen den behandelten und den Kontrolltieren. Bei den Kontrollen kam es in kurzer Zeit zu einer mächtigen Vermehrung der Kokken, während bei den behandelten die Zahl der Keime rasch abnahm, so dass im Exsudat von der 8. Stunde an Kokken nur vereinzelt gefunden wurden. Diese grundlegende Beobachtung *Domagks* wurde seitdem von zahlreichen Verfassern, besonders in bezug auf die Strepto- und Pneumokokkeninfektion der Maus, bestätigt und durch mehrere Beobachtungen ergänzt. 1937 teilten *Long* und *Bliss*<sup>232</sup> mit, dass die Streptokokken aus der Bauchhöhle der behandelten Mäuse bald verschwinden, obwohl sie vor ihrem Schwund noch zu einer vorübergehenden Bakteriämie Anlass geben können. *MacIntosh* und *Whitby*,<sup>240</sup> *Reid*,<sup>310</sup> ferner *Schmith*<sup>328</sup> haben festgestellt, dass die Kokken, trotz der Behandlung, eine Zeit lang nach der Infektion noch ein wenig gedeihen und ihre Zahl erst nach 6 Stunden rasch abzunehmen beginnt. Sonach kann es im Frühstadium der Infektion zu einer gewissen Generalisation kommen; im Blute können Bakterien erscheinen. Die Bakteriämie ist aber vorübergehend, und nach 24 Stunden lassen sich Kokken sowohl im Blute als auch an der Stelle der Infektion nur spärlich finden. *Demnach hört die Vermehrung der Bakterien im lebenden Organismus gleich wie in dem Reagenzglas erst nach einer Latenzperiode auf.* Dieser Parallelismus dürfte in dem Sinne ausgewertet werden, dass die in Reagenzglasversuchen beobachtete

bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide auch im lebenden Organismus zur Geltung kommt. Obwohl die Erreger aus Blut und Exsudat rasch verschwinden, kann der Organismus noch nicht als sterilisiert angesehen werden; *Levaditi* und *Vaisman*<sup>216</sup> fanden selbst noch am 8. Tage nach der Infektion Streptokokken in den parenchimatösen Organen der Maus (s. auch Kap. II).

Ebenso wie die grampositiven Kokken verschwinden auch die in Mucin suspendierten Meningokokken unter der Einwirkung der Behandlung aus der Bauchhöhle der infizierten Mäuse (*Ivánovics*<sup>158</sup>).

Die mit 1.000 tödlichen Dosen infizierten Mäuse wurden sofort nach der Infektion mit einer einmaligen grossen Sulfamethylthiazoldosis (30 mg) per os behandelt, in zweistündigen Abständen zu dritt getötet und ihre Organe, vor allem das Bauchfellexsudat, bakteriologisch untersucht. Parallel zu diesen wurden auch Kontrolltiere eingestellt, die kein Medikament erhielten. In der Bauchhöhle der nach 2 Stunden getöteten Tiere waren Kokken bei den behandelten und unbehandelten gleichweise spärlich zu finden. Nach 4 Stunden war der Unterschied schon beträchtlich: in der Bauchhöhle der behandelten Mäuse war die Zahl der Kokken ungefähr die gleiche wie bei den nach zwei Stunden getöteten, bei den unbehandelten liess sich aber ihre wesentliche Vermehrung feststellen. Bis zu diesem Zeitpunkt konnten die Kokken im Herzblut aller getöteten Tiere nachgewiesen werden. Nach 6 Stunden war die Zahl der Keime in der Bauchhöhle der unbehandelten Tiere ansehnlich, während ihre Anwesenheit mikroskopisch nur bei 2 von 3 behandelten Tieren beobachtet werden konnte; die Züchtung gelang aber in allen drei Fällen. Im Herzblut wurden Kokken nur bei jenen zwei Tieren festgestellt, bei denen auch der mikroskopische Befund des Bauchexsudates positiv war. Nach 8 Stunden fanden wir nur bei 1 Tier Kokken, während ihre Zahl bei den Kontrollen weiter anstieg. Nach 10—12 Stunden waren Blut, Exsudat, Milz, Leber und andere Organe der behandelten Mäuse keimfrei, während bei der Kontrollen der ganze Organismus von ihnen überschwemmt war.

Aehnliche Beobachtungen machten bei Kaninchen *Gay* und *Clark*.<sup>122</sup> Sie haben die Tiere mit Streptokokken intrapleural infiziert und mit Sulfanilamid behandelt, dann den Infektionsverlauf bzw. die Generalisierung in serienweisen Untersuchungen verfolgt. Bei den behandelten Tieren erreichte die Zahl der Erreger in den ersten 12 Stunden das Zehnfache des ursprünglichen Wertes. Hingegen wurde bei den Kontrollen eine 6.500-fache Vermehrung beobachtet. Im weiteren nahm die Zahl der Kokken bei den behandelten Tieren nicht mehr zu, im Gegenteil, es fand eine Abnahme statt. Im Verlauf der Behandlung war auch die Generalisierung der Infektion nur geringfügig und von vorübergehendem Charakter. In der nichtinfizierten Pleurahöhle der anderen Seite und im Blut waren die Kokken nur kurze Zeit und in kleiner Zahl vorhanden.

*Vom Gesichtspunkte dieses Problems ist es eine sehr wichtige Tatsache, dass die p-Aminobenzoesäure auch die therapeutische Wirkung der Sulfanilamidderivate behebt. Dies ist ein unwiderlegbarer Beweis dafür, dass diese Verbindungen auch im lebenden Organismus infolge ihrer bakteriostatischen Eigenschaften wirken.* Folgende Versuchsdaten sollen in diesem Zusammenhang besprochen werden. *Selbie*<sup>336</sup> verabreichte mit hämolytischen Streptokokken infizierten Mäusen je 25 mg Sulfanilamid und p-Aminobenzoesäure. Der Unterschied war im Vergleich mit der nur mit Sulfanilamid behandelten Gruppe sehr auffallend. Diese Beobachtung wurde auch von *McCarty*,<sup>239</sup> *Strauss*, *Lowell* und *Finland*,<sup>351</sup> *Martin* und *Fischer*,<sup>263</sup>

*Benigno*,<sup>16</sup> ferner *Domagk*<sup>60</sup> auf Grund von Versuchen mit verschiedenen Sulfanilamidderivaten bestätigt. *Domagk* beobachtete überdies, dass die therapeutische Wirkung des „Amonal“ ( $\text{NO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{COO} \cdot \text{C}_{12}\text{H}_{25}$ ) gegen Pneumokokken durch die p-Aminobenzoesäure nicht aufgehoben wird.

Anlässlich der In-vivo-Versuche mit der p-Aminobenzoesäure-Interferenz ist es aber aufgefallen, dass die *In-vivo-Wirkung* dieser Säure erheblich grössere Mengen erfordert, als im Reagenzrohr. *Martin* und *Fischer*<sup>263</sup> konnten die therapeutische Wirkung von 2 mg Sulfanilamid erst mit 0,8 mg p-Aminobenzoesäure neutralisieren; im Reagenzglas genügen cca 0,002 mg (*McIlwain*<sup>242</sup>). Seiner Ansicht nach sei dieser Unterschied zum Teil dadurch bedingt, dass die p-Aminobenzoesäure im Organismus grösstenteils rasch acetyliert und auf diese Weise wirkungslos bleibe, zum Teil dadurch, dass die freie Säure den Organismus schneller als das Sulfanilamid verlasse. *McIlwain*<sup>242</sup> legt dieser Auffassung die Untersuchungen von *Harrow*, *Mazur* und *Sherwin*,<sup>142</sup> ferner *Quick*<sup>302</sup> über die Resorption und Ausscheidung der p-Aminobenzoesäure zugrunde. Obwohl im Laufe unserer Ausführungen die klinischen Beobachtungen immer ausser acht gelassen wurden, möchten wir hier ausnahmsweise erwähnen, dass *Kimmig*<sup>186</sup> die Globucid-Therapie der Gonorrhöe für unwirksam fand, wenn er dem Kranken gleichzeitig auch p-Aminobenzoesäure verabreichte. Allerdings wurden seine Beobachtungen von *Loehe* und *Brett*<sup>238</sup> nicht bestätigt.

Nach dem Gesagten steht es zweifelsohne fest, dass der p-Aminobenzoesäure-Interferenz auch beim lebenden Organismus Rechnung zu tragen ist. Dass dieser zum  $\text{B}_2$ -Komplex gehörende Stoff auch in den höheren Organismen anwesend ist, kann kaum bezweifelt werden, obwohl er aus tierischen Organen noch nicht isoliert wurde. Dennoch stehen schon Angaben hinsichtlich seiner Menge zur Verfügung. Von den einschlägigen Versuchen dürfte denen von *MacLeod*<sup>252</sup> kaum ein restloses Vertrauen entgegengebracht werden, da seine Ergebnisse infolge seiner Versuchsmethodik auch von unspezifischen Faktoren beeinflusst werden konnten. *MacLeod* stellte nämlich seine Versuche mit sulfanilamidvergifteten Coli-Kulturen an. In synthetischen Nährböden können nun ausser der p-Aminobenzoesäure auch andere Stoffe (z. B. Methionin), zu einer Interferenz Anlass geben (s. auch IV. Kap. Pt. 3.). Nach *MacLeod* üben die Exsudate und Punktate, der menschliche Urin und die Extrakte — besonders die Autolysate — der tierischen Organe eine Antisulfanilamidwirkung aus. *McIlwain*<sup>242</sup> verwendete zum Nachweis der p-Aminobenzoesäure die Kulturen des *Cl. acetobutylicum*. Das Verfahren hat sich zum spezifischen Nachweis dieser Substanz bewährt. Er fand mit dieser Methode im menschlichen Plasma  $2-10 \times 10^{-9}$  mol, in den roten Blutkörperchen  $5-8 \times 10^{-9}$  mol, im Urin  $5-20 \times 10^{-9}$  mol freie p-Aminobenzoesäure. Die Menge der nach Hydrolyse freiwerdenden p-Aminobenzoesäure ist erheblich grösser: im Plasma  $120-1.200 \times 10^{-9}$  mol, im Urin  $500-20.000 \times 10^{-9}$  mol. Seiner Ansicht nach benötige der Organismus bei Vorhandensein von freier p-Aminobenzoesäure in einer Konzentration von  $2-10 \times 10^{-9}$  mol eine Sulfanilamidkonzentration von  $10^{-4}-10^{-5}$  mol, um die Vermehrung der hämolytischen Streptokokken zu ver-

hindern. Dieser Wert stimmt mit den empirisch gewonnenen gut überein, denn die minimale Sulfanilamidkonzentration, die noch therapeutisch wirksam ist, beträgt  $1,2 \times 10^{-4}$  mol ( $= 2$  mg %). Ähnliche Studien können, besonders in pathologischen Fällen, zu praktisch wichtigen Feststellungen führen, zumal aus den Versuchen *Mac Leods*, obwohl sie nicht beweiskräftig sind, darauf geschlossen werden kann, dass die zerstörten bzw. durch Autolyse zugrunde gegangenen Gewebe eine gesteigerte Menge von p-Aminobenzoesäure enthalten, weshalb die von *McIlwain* angegebene kritische Konzentration am Ort der pathologischen Veränderungen als unzureichend zu betrachten wäre.

## 2. Die Rolle der Abwehrreaktionen des Organismus.

Solange die Verwandlung des Prontosil im Organismus nicht bekannt und die bakteriostatische Wirksamkeit des Sulfanilamid nicht generell anerkannt war, glaubten viele, dass die Sulfanilamide ihre Wirkung auf die Krankheitserreger nicht direkt, sondern auf dem Umwege über die Abwehrreaktionen des Organismus ausübten. Vor allem wurde angenommen, dass die Vernichtung der Erreger durch Förderung der Tätigkeit des reticuloendothelialen Systems (RES) erfolge. Im Jahre 1935 fand *Domagk*<sup>74, 76</sup> in der Bauchhöhle der mit Streptokokken intraperitoneal infizierten Maus neben zahlreichen Kokken nur Leukozytenfragmente, während im Exsudat der mit Prontosil behandelten Tiere keine Kokken, hingegen wohlerhaltene Leukozyten vorhanden waren. Auf Grund dieser Erfahrungen behauptete *Domagk*<sup>75</sup> ein Jahr später, dass im Organismus der mit Prontosil behandelten Tiere die Phagozytose gesteigert werde und hiermit die günstige Wirkung des Präparates zusammenhänge. Das Prontosil wirke demnach „opsonisierend“ auf die Bakterien. Über ähnliche Beobachtungen berichteten damals auch *Levaditi* und *Vaisman*<sup>218</sup>. *Long* und *Bliss*<sup>232</sup> legten 1937 ebenfalls die gesteigerte Phagozytose der therapeutischen Wirkung zugrunde. Später (1937) äusserte sich *Domagk*<sup>77</sup> dahingehend, dass die erhöhte Phagozytose bzw. ihre Rolle nicht genügend bewiesen werden konnte. Auch *Bliss* und *Long*<sup>25</sup> gingen später von ihrer ursprünglichen Ansicht ab, bzw. behaupteten, die Phagozytose komme beim behandelten Tier darum besser zur Geltung, weil das Arzneimittel das Wachstum der Streptokokken verlangsamt, wodurch sich den Leukozyten zur Entfaltung ihrer Tätigkeit mehr Möglichkeit biete als in den Kontrollen.

Die therapeutische Bedeutung der gesteigerten Phagozytose wurde auch von anderen Verfassern (*Mellon*<sup>248, 271</sup> und seine Mitarbeiter, *Reid*<sup>310</sup> ferner *Schmith*<sup>326</sup>) als unbewiesen betrachtet; in der Bauchhöhle der behandelten und der unbehandelten Tiere sind gleichweise wenig Leukozyten vorhanden, auch diese haben nur eine kleine Anzahl von Kokken einverleibt. Nach *Mellon* und seinen Mitarbeitern werde die Tätigkeit der reticuloendothelialen Zellen der Milz und Leber durch das Sulfanilamid nicht erhöht. *Gay* und *Clark*<sup>122</sup> äussern sich hierüber auf Grund ihrer Kaninchenversuche wie folgt (1937): „... sulfanilamide apparently produces a bacteriostasis sufficiently marked to protect the accumulated leucocytes and to allow the natural defence macrophages to accumulate. There is direct evidence

that the drug does not itself stimulate mobilization of the macrophages. There is no evidence that the cell reaction which finally accounts for disposal of the organisms is other than local." *Bosse*<sup>31</sup> hat zwar behauptet (1936), dass das Prontosil bei splenektomierten Mäusen schwächer wirke, doch wurde dies von anderen Forschern (*Mellon*<sup>134, 272</sup> und seine Mitarbeiter, *Mac Intosh* und *Whitby*<sup>246</sup>) nicht bestätigt, so dass bezüglich der primären Wirkung des Sulfanilamid auf das RES keinerlei Beweis erbracht wurde. Interessant sind in dieser Beziehung die bisher noch nicht erhärteten Beobachtungen von *Finklestone-Sayliss*<sup>98</sup> und seine Mitarbeiter, die im Laufe einer anhaltenden Sulfanilamidwirkung die Vermehrung der Milzphagozyten festgestellt haben.

Wie ersichtlich, konnte die phagozytosefördernde Wirkung der Sulfanilamide in vivo nicht bewiesen werden. Es gibt aber Beobachtungen, die dafür sprechen, dass das Prontosil bzw. Sulfanilamid in vitro die Phagozytose der Leukozyten steigert. Diese Wirkung kommt bei grossen Verdünnungen der Präparate zur Geltung (*Finklestein* und *Birkeland*<sup>97</sup>, *Chandler* und *Janeway*<sup>53</sup>). *Miss Tunnicliff*<sup>363</sup> hat in zahlreichen ausführlichen Versuchen erwiesen, dass die Leukozyten des menschlichen Zitratblutes nach Hinzufügung von 1:100.000 Prontosil den *Streptococcus viridans* energischer phagozytieren. Ferner beobachtete sie, dass die aus Otitiseiter und Zahngranulomen entnommenen Leukozyten unter der Wirkung von starken Verdünnungen dieser Mittel die Kokken in erhöhtem Masse einverleibten. Auch in Knochenmarkkulturen beobachteten *Osgood* und *Browlee*<sup>284</sup> eine gesteigerte Phagozytose, wenn sie mit Sulfanilamid versetzt wurden. Doch sei dies nach der Meinung der Verfasser nicht als eine direkte Sulfanilamidwirkung anzusehen; die Erscheinung komme in der Weise zustande, dass die der Sulfanilamidwirkung ausgesetzten Kokken weniger Toxin (Leukocidin) erzeugen, wodurch die weissen Blutzellen weniger geschädigt werden.

Der von den einzelnen Verfassern beobachteten in vitro gesteigerten Phagozytose scheint vom Gesichtspunkt der therapeutischen Wirksamkeit aus keine besondere Bedeutung zuzukommen. Dieser Ansicht haben sich auf Grund ihrer eigenen Beobachtungen auch *Chandler* und *Janeway*<sup>53</sup> angeschlossen. *Warscheinlich stellt diese Wirkung eine nichtspezifische Eigenschaft dieser Mittel dar.* In diesem Sinne lassen sich auch die unlängst veröffentlichten Versuche von *Neufeld* und *Baer*<sup>284</sup> auswerten. Sie behaupten, dass die in vitro zu beobachtende gesteigerte Phagozytose nicht durch das Sulfanilamid, sondern durch ein näher nicht bekanntes labiles Verwandlungsprodukt des Sulfanilamid hervorgerufen werde. In ihren Versuchen wurde nämlich die Steigerung der Phagozytose nur dann beobachtet, wenn das Sulfanilamid vorher eine längere Zeit hindurch mit dem Blut in Berührung war. Sie glauben, dass der opsonisierend wirkende Stoff — der sehr labil sein dürfte, da die Versuche bei systematischer Wiederholung nicht immer gelangen — während der Berührung des Mittels mit dem Blut entstehe. Sie sagen hierüber folgendes: „Bisweilen, wohl infolge der Labilität des wirksamen Produkts, misslingt aber der Nachweis der Phagozytoseförderung. Ferner gelang uns noch nicht ein reproduzierbar eindeutiger Nachweis einer phagozytoseerregenden Wirkung von Eubasin (Sulfapyridin) gegen-

über Pneumokokken nach Umwandlung in Tierkörper oder in vitro.“ Ähnlich äussern sie sich über das Uliron und auch das Albucid. Die Specificität der von ihnen beobachteten Erscheinungen ist aber sehr zweifelhaft, da die Phagozytose in den Kontrollversuchen auch von Tannin, Eisenaulan usw. gefördert wurde.

Was nun die Bedeutung der Phagozytose für die Sulfanilamidwirkung betrifft, ist hierüber zusammenfassend folgendes zu sagen: *Das Sulfanilamid wirkt primär auf die Bakterien, diese Wirkung hat die Abnahme ihrer Fortpflanzungsfähigkeit und Toxinerzeugung zur Folge, wodurch das RES seiner Aufgabe, der Entfernung der eindringenden Keime, leichter gerecht werden kann.* Ist die Vermehrungsfähigkeit ein Massstab der Virulenz, so ist die Lage der unter Sulfanilamidwirkung stehenden Bakterien im Organismus dieselbe wie die der avirulenten Keime, sie fallen der Abwehrtätigkeit des Organismus zum Opfer. Ausser diesen cellulären Faktoren sind an der Heilung auch andere, die Immunstoffe, beteiligt. Die Bedeutung des humoralen Faktors wurde schon im Kap. II. erörtert, deshalb soll hier nur darauf verwiesen werden. Bestimmt wird die Immunstoffherzeugung durch die Sulfanilamide nicht gesteigert (*Curnen* und *MacLeod*<sup>67</sup>), aber, wie erwähnt, auch nicht gehemmt. Mithin ist den Immunstoffen in der Sulfanilamidbehandlung eine gewisse Bedeutung beizumessen.

Als eine weitere Folge der durch die Sulfanilamide bedingten Bakteriostase ist der Umstand zu beachten, dass parallel zur Abnahme der Entwicklung auch die Toxinproduktion abnimmt. Wie bereits erwähnt, konnten *Osgood* und *Browlee*<sup>294</sup> (1938) die Abschwächung der Hämotoxinproduktion der Streptokokken unter Sulfanilamidwirkung beobachten. Über die Abnahme der Hämotoxin- und Fibrinolysinerzeugung berichteten schon früher *Madison* und *Snow*<sup>254</sup>, später *Huntington*<sup>152</sup>; *Neter*<sup>283</sup> fand im Punktat der mit Sulfanilamid behandelten Empyemfälle weniger Fibrinolysin, als in den unbehandelten Fällen. *Es ist hingegen fraglich, ob das Sulfanilamid die Giftwirkung des fertigen Toxins herabzusetzen vermag*, wie es von *Levaditi* und *Vaisman*<sup>277</sup> behauptet wurde (1935). Unseres Wissens wurde diese Beobachtung nur von *Carpenter*<sup>48, 49, 50, 51</sup> und seinen Mitarbeitern bestätigt. Letztere fanden in zahlreichen Tierversuchen, dass die Endotoxine der Gono-, Pneumo- und Staphylokokken bzw. die Toxine des *Cl. botulinum*, *Bac. tetani* und anderer Anaerobier in der Menge von 1—2 d. l. m. von Sulfanilamid in vitro oder in vivo oder in beiden Fällen inaktiviert werden. Andere Verfasser aber sprechen den Sulfanilamiden jede toxinneutralisierende Fähigkeit ab. In diesem Sinne berichten: *Huntington*<sup>152</sup> über das erythroge Toxin der Streptokokken; *Osgood* und *Powell*<sup>295</sup> über die Hämotoxine des *Staphylococcus*, *B. perfringens*, *B. tetani*, *B. oedematis maligni*. Ebenso wenig konnten sie den Einfluss der Sulfanilamide auf das Diphtherie- oder Tetanustoxin feststellen, *Gross*, *Cooper* und *Lewis*<sup>133</sup> konnten die Wirkung des Meningococcusendoxins mit Sulfanilamid nicht abwehren. Schliesslich seien die misslungenen Versuche *Schneiersons*<sup>329</sup> erwähnt, der mit Sulfanilamid das Schwarzmannsche Phänomen beeinflussen wollte.

### 3. Quantitative Zusammenhänge zwischen der In-vivo- und In-vitro-Wirkung.

Auf Grund der gegenwärtigen Kenntnisse steht es zweifelsohne fest, dass die therapeutische Wirkung der Sulfanilamidderivate auf ihrer bakteriostatischen Wirkung fusst. Die Verbindungen wirken im Organismus unmittelbar auf die Erreger; hierdurch gewähren sie dem Organismus Zeit und Hilfe zur Entfaltung seiner natürlichen Abwehrreaktionen. Wenn nun der therapeutischen Wirksamkeit die bakteriostatische Wirkung zugrunde liegt, so wäre anzunehmen, dass die beiden Werte sich parallel zu einander verhalten. Wie im folgenden gezeigt werden soll, trifft das nicht ganz zu, und der Parallelismus kann nur als partiell betrachtet werden.

Bedauerlicherweise ist die Zahl der einwandfreien Versuche, die für die Lösung dieses Problems in Betracht kommen, ziemlich gering. Da es sich um quantitative Verhältnisse handelt, sind die Fehlerquellen zahlreich. In einer Hinsicht sind aber die Literaturangaben übereinstimmend und verlässlich: *es gibt kein strenger Parallelismus zwischen therapeutischer und bakteriostatischer In-vitro-Wirkung.*

Vom Gesichtspunkt der Frage aus schien die Ausserachtlassung der N<sup>4</sup>-Derivate (Prontosil, entsprechende Acylderivate des Sulfanilamid usw.) zweckmässig zu sein, da diese Verbindungen — wie im Kap. V. bereits erwähnt wurde — im Reagenzglas vollkommen unwirksam sind und im Organismus nur in dem Grade wirken, wie sie zu Sulfanilamid gespalten werden. Dennoch sind einige von ihnen therapeutisch sehr wirksam; so ist das in vitro unwirksame Diacetyl-derivat des 4,4'-Diaminodiphenylsulfon ( $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{HN} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$ ) bei der Streptokokkensepsis der Mäuse dem Sulfanilamid nach *Bauer* und *Rosenthal*<sup>13</sup> dreifach, nach *Buttle*<sup>10</sup> und seinen Mitarbeitern zehnfach überlegen. Der Umstand, dass die N<sup>4</sup>-Derivate im Organismus wirksam werden, macht das Problem noch verwickelter. So liegt es im Interesse der Vereinfachung der Probleme, von diesen Verbindungen hier abzusehen.

In Zusammenhang mit der bakteriostatischen Wirkung der Sulfanilamide wurde weiter oben erwähnt, dass die einzelnen Verbindungen gegenüber den verschiedenen Erregern *verhältnismässig ungefähr* gleich wirksam sind. So sind z. B. die heterozyklischen Sulfanilamidderivate gegen Pneumokokken, Streptokokken, Coli-, Ruhr- und Typhusbazillen erheblich, oft 10—20-mal wirksamer als das Sulfanilamid. Wäre die therapeutische Wirkung nur durch die bakteriostatische Wirksamkeit bestimmt, so müssten die heterozyklischen Derivate gegen alle Infektionen beträchtlich wirksamer sein als das Sulfanilamid. Es steht aber fest, dass dem nicht so ist.

Auch die klinischen Erfahrungen, die hier übrigens nicht behandelt werden sollen, weisen darauf hin, dass bei den verschiedenen Infektionen von den einzelnen Verbindungen verschiedene therapeutische Wirkungen zu erwarten sind. Die Erfahrungen der experimentellen Chemotherapie gestatten selbstverständlich eine sicherere Beurteilung dieser Verhältnisse als die klinischen Beobachtungen; die Existenz solcher Unterschiede ist aber ohnedies nicht zu bezweifeln. Das Sulfapyridin, Sulfathiazol, Sulfamethylthiazol und

andere heterozyklische Derivate wirken bei der Pneumokokkeninfektion der Mäuse energischer als das Sulfanilamid. Berücksichtigt man auch die Unterschiede der Molekülgrösse, so ist ihre Wirksamkeit 3—4-mal höher als die des Sulfanilamid zu schätzen (s. Kap. II.). *Marshall*<sup>223</sup> und seine Mitarbeiter stellten in bezug auf die Wirksamkeit der Verbindungen gegen die Infektion der Maus mit Pneumococcus Typ 1 folgende Verhältniszahlen fest: Sulfapyridin 1 (die Einheit), Sulfathiazol 1,2; Sulfanilamid 0,45; Sulfon 5—8. Demnach wirke das Sulfathiazolmolekül in vivo 5,2-mal, das Sulfapyridin 4,3-mal, das Sulfon 16—25-mal stärker als das Sulfanilamidmolekül. Im Reagenzglas (*Frisk*<sup>112</sup>) wirkt das Sulfapyridin 5-mal, das Sulfathiazol 25-mal, das Sulfamethylthiazol 5—25 mal so stark auf den Pneumococcus, wie das Sulfanilamid. *Jensen* und *Schmith*<sup>178</sup> fanden, dass das 4,4'-Diaminodiphenylsulfon, das Sulfathiazol und Sulfamethylthiazol in der 1:160.000 Verdünnung, das Sulfapyridin in der 1:40.000, das Sulfanilamid in der 1:5.000—1:10.000 Verdünnung auf den Pneumococcus Typ 1 bakteriostatisch wirkte. Sonach sind Sulfathiazol, Sulfapyridin und Sulfon dem Sulfanilamid in vivo und in vitro überlegen, diese zwei Wirkungen verhalten sich aber nicht streng parallel: denn das Sulfon ist viel wirksamer in vivo, als die heterozyklischen Derivate, obwohl sie in vitro keinen Unterschied zeigen.

Die heterozyklischen Derivate wirken auch gegen die Streptokokken stärker bakteriostatisch als das Sulfanilamid, in vivo aber die Präparate gleich wirksam. Tabelle 26. enthält die Daten der bakteriostatischen Versuche mit einem Streptococcus hamolyticus-Stamm Gruppe B, in deren Verlaufe die mäusetherapeutische Wirkung der Präparate verglichen wurde. Die Antistreptokokkenwirkung der einzelnen Mittel wurde auf Grund der Literaturangaben aufgezeichnet. Die bakteriostatische Wirkung wurde in Caseinnährboden auf Grund der in Kap. III. besprochenen Methode gemessen. Der Titer bedeutet die grösste Verdünnung, die im Falle eines 10<sup>-6</sup> ccm Inoculums die Gedeihung der Kokken in dem 24stündigen Versuch gerade verhinderte.

Wir sind uns darüber klar, dass die in der Tabelle verzeichneten Literaturdaten nur für Orientierungszwecke geeignet sind, da die Untersuchungen mit verschiedenen Stämmen unter Anwendung verschiedener Methoden durchgeführt wurden. Obwohl die Ergebnisse aus diesem Grunde ziemlich heterogen sind, gestatten sie doch von mehreren Gesichtspunkten aus eine Einsicht in das Problem. So lässt sich z. B. feststellen, was weiter oben bereits erwähnt wurde, dass gegen die Streptococcusinfektion der Maus die heterozyklischen Derivate nicht oder kaum wirksamer sind als das Sulfanilamid. Ansonst sprechen alle Versuche eindeutig dafür, dass das 4,4'-Diaminodiphenylsulfon erheblich energischer wirkt als das Sulfanilamid; es erwies sich in den Versuchen von *Bauer* und *Rosenthal*<sup>13</sup> dem Sulfanilamid dreissigfach, in denen von *Buttle*<sup>40</sup> und seinen Mitarbeitern hundertfach überlegen. *Marshall*<sup>202</sup> und seine Mitarbeiter haben festgestellt, dass zur Heilung der mit Streptokokken infizierten Maus aus dem Sulfanilamid eine dreifache Blutkonzentration erforderlich sei, gegenüber dem Sulfon.

Aus obigen geht klar hervor, dass die heterozyklischen Sulf-

Tabelle 26.

Die bakteriostatische Wirkung von verschiedenen Sulfanilamidderivaten auf den Streptococcus (Gruppe B) und ihre Antistreptococcus-Wirkung in der Maus nach Literaturangaben.

Verbindung	Baktstts.-Titer	Antistrep.-Wirk. in Maus
4-Aminobenzosulfo-4'-nitroanilid	mol/332.000	++++ <sup>11</sup>
2-Sulfanilamido-4-methylthiazol	mol/290.000	++++ <sup>62</sup> , +++ <sup>100</sup>
4,4'-Diaminodiphenylsulfon	mol/145.000	+++++ <sup>12,13,40,44,107,262</sup>
2-Sulfanilamido-pyridin	mol/82.000	++++ <sup>62,378</sup> , +++ <sup>78,100,262</sup>
4-Aminobenzosulfo-4'-aminoanilid	mol/58.000	++++ <sup>11,377</sup>
4-Aminobenzosulfo-2'-carboxyanilid	mol/47.000	+++ <sup>65</sup>
4-Aminobenzosulfo-anilid	mol/45.000	+++ <sup>41</sup> , ++ <sup>13</sup>
4-Aminobenzosulfonamid (Sulfanilamid)	mol/22.000	+++
4-Aminobenzosulfo-3'-carboxyanilid	mol/18.000	+ <sup>65</sup>
Sulfaguandin	mol/13.000	++ <sup>261</sup>
4-Aminobenzosulfo-4'-carboxyanilid	mol/6.200	+ <sup>11,12,13</sup>
Sulfanilsäure	mol/3.900	+ <sup>41</sup> , — <sup>362</sup>
4-Aminobenzosulfoaminoessigsäure	mol/1.430	+ <sup>11,40</sup>
Marfanil	mol/1.000	+ oder ++ <sup>80</sup> , + <sup>167</sup>
4,4'-Dioxydiphenylsulfon	mol/1.000	— <sup>40</sup>
4-Aminobenzamid	> mol/500	— <sup>862</sup>
4-Nitrobenzoesäure	> mol/500	++ <sup>269</sup> , + <sup>316</sup>
4-Nitrobenzamid	> mol/500	+ <sup>316</sup>

Bemerkung zur Tabelle: Die chemotherapeutische Wirksamkeit wird durch folgende Zeichen angegeben: + = das Mittel ist kaum wirksam, ++ = es wirkt etwas schwächer als das Sulfanilamid, +++ = gleichwertig mit dem Sulfanilamid, ++++ = wirkt besser, höchstens zweimal so stark wie das Sulfanilamid, +++++ = mindestens dreimal so stark wie das Sulfanilamid.

Bemerkung zu den in der Tabelle angeführten Literaturangaben. (80): Domagk schreibt auf Seite 69 seiner Arbeit: „Marfanil, das in vitro gegen Streptokokken besonders gut wirksame Sulfanilamid, wirkt bei oraler Darreichung auf die mit Streptokokken infizierte Maus geringer als P. A.“. (167): Die Infektion erfolgte mit Richard-Stamm ip. (0,5.10<sup>-7</sup> ccm Bouillonkultur). Insgesamt 6 Behandlungen wurden durchgeführt mit je 2×5 mg täglich. Fünf Kontrolltiere gingen innerhalb von 24 Stunden ein. Von den mit Marfanil behandelten 6 Tieren blieb 1 am Leben, die 5 eingegangenen lebten durchschnittlich 1,2 Tage.

anilamidderivate gegen die Streptokokkeninfektion der Maus nicht besser wirken als das Sulfanilamid selbst. Dagegen sind die Derivate dem Sulfanilamid bei den Pneumococcusinfektionen mehrfach überlegen. Eigentümlicherweise wirkt das Sulfon in beiden Fällen energischer als die anderen Präparate. Es hat den Anschein, dass die heterozyklischen Derivate nicht nur gegen die Streptokokken sondern auch bei anderen Infektionen das Sulfanilamid an Wirkung nicht immer übertreffen. Bei der intraperitonealen Typhusinfektion der Maus wirkten Sulfathiazol und Sulfapyridin nicht besser als das Sulfanilamid, obwohl sie im Reagenzglas erheblich wirksamer waren (Ivanovics<sup>167</sup>). Andererseits wirkt das Sulfathiazol und noch mehr das

Sulfamethylthiazol auf die Staphylococcusinfektionen bekanntlich besser als das Sulfapyridin oder das Sulfanilamid.

*White, Litchfield* und *Marshall*<sup>1891</sup> stellten bei der Coliinfektion der Mäuse für die Wirksamkeit der einzelnen Präparate folgende Verhältniszahlen fest (die Wirkung des Sulfanilamid wird mit 1 bezeichnet): Sulfapyridin 6, Sulfathiazol 10, Sulfadiazin 11. In vitro war das Sulfapyridin 16-mal, das Thiazol und das Diazin 64-mal wirksamer. Gewisse Zusammenhänge konnte *Frisk*<sup>113</sup> auch in seinen Pneumococcusversuchen finden. Diese Daten führen wir in der Zusammenstellung des Verfassers unten an. Die stärkste Wirkung wird von *Frisk* mit 1 bezeichnet.

<i>In-vivo-Wirkung</i>		<i>In-vitro-Wirkung</i>	
Wirksamkeit	Verbindung	Wirksamkeit	Verbindung
1,0	Sulfathiazol Sulfamethylthiodiazol Sulfapyridin	1,0	Sulfathiazol Sulfamethylthiodiazol Sulfaisopropylthiodiazol Sulfapyridin Sulfaaethylthiodiazol
0,8	Sulfaaethylthiodiazol Sulfacarbamid	0,2	Sulfathiocarbamid Sulfathiophen
0,5	Sulfapyrimidin Sulfacarbamid N <sup>1</sup> -dimethylacrylsulfanilamid 1-Sulfamethylnaphtalin	0,1—0,2	Sulfapyrimidin Sulfacarbamid N <sup>1</sup> -Dimethylacrylsulfanilamid
0,25—0,3	4-Sulfahydroxymethylnaphtalin Sulfathiophen Sulfaisopropylthiodiazol	0,1	1-Sulfamethylnaphtalin 4-Sulfahydroxy-methylnaphtalin

Bei Vergleich der zweierlei Wirkungen gibt es nach *Frisk* nur im Falle des Sulfaisopropylthiodiazol und des Sulfathiophen einen auffallenden Unterschied. In bezug auf des erste Präparat bemerkt *Frisk*, dass es im Organismus eine Umwandlung erfahren dürfte (?), während die therapeutische Wertbestimmung des Sulfathiophen mit kaum überwindlichen technischen Schwierigkeiten verbunden ist. Aber es steht fest, selbst wenn diese Ausnahmen unberücksichtigt bleiben, dass die zwei Wirkungsarten nicht immer streng parallel sind.

Die angeführten Beispiele haben bewiesen, dass die bakterio-statische und die therapeutische Wirksamkeit sich nicht immer parallel verhalten. Abhängig von dem Krankheitserreger kann einmal das eine, dann wieder das andere Chemotherapeuticum sich wirksamer erweisen, als es auf Grund der Reagenzglasversuche zu erwarten wäre. Besonders auffallend ist die starke chemotherapeutische Wirksamkeit des 4,4'-Diaminodiphenylsulfon. Auch andere auffallende Unterschiede sind aus Tab. 26. zu ersehen wie z. B. im Falle der 4-Nitrobenzoesäure und des 4-Amino- bzw. 4-Nitrobenzamid. Diese Verbindungen waren in meinen Versuchen gegen den verwendeten Streptococcusstamm vollkommen unwirksam. Dagegen hat die p-Nitrobenzoesäure — wie von *Mayer* und *Oechsli*,<sup>209</sup> ferner

*Rosenthal*<sup>316</sup> und seinen Mitarbeitern beobachtet — einen günstigen Einfluss auf die Streptokokkeninfektion der Mäuse.

Die Frage, warum zwischen der In-vivo- und der In-vitro-Wirkung der verschiedenen Sulfanilamide kein strenger Parallelismus besteht, kann auf Grund der gegenwärtigen Kenntnisse nicht definitiv beantwortet werden. Mangels entsprechender Versuche können die Gründe dieser Erscheinung nur vermutet werden. Sicher spielen hier mehrere Faktoren mit. Möglicherweise liegt ein Grund in den pathologischen Eigenschaften der einzelnen Infektionen, obwohl zwischen der Strepto- und Pneumokokkensepsis der Mäuse hinsichtlich des Krankheitsbildes und -verlaufs ein Unterschied ebensowenig vorliegt wie im Hinblick auf die pathologische Anatomie. Es ist nicht ausgeschlossen, dass die im lebenden Organismus wachsenden Bakterien gegenüber den Sulfanilamiden entsprechend den einzelnen Präparaten eine von der im Reagenzglas gezeigten abweichende Empfindlichkeit haben. Es gibt ja Erreger (*Streptococcus*, *Milzbrandbacillus*), die im Organismus Kapsel bilden, im Reagenzglas aber selten oder überhaupt nicht. Es ist denkbar, dass die Sulfanilamidderivate durch die Kapsel verschiedentlich diffundieren, wodurch in der therapeutischen Wirkung Unterschiede bedingt sein können. Nicht wenig interessant ist die Tatsache, dass die Milzbrandinfektion der Mäuse durch Sulfanilamidderivate nicht oder nur wenig beeinflusst werden kann (*Ivánovics*,<sup>156</sup> *Cruickshank*,<sup>66</sup> *Máy* und *Buck*<sup>266</sup>), obwohl sie in vitro gegen diese Bazillen eine beträchtliche bakterio-statische Wirkung ausüben (*Ivánovics*<sup>167</sup>). Man soll aber bedenken, dass der *Anthraxbacillus* im Organismus Kapsel trägt und keine Sporen bildet, im Reagenzglas sich aber umgekehrt verhält: das „animale“ Bakterium unterscheidet sich erheblich von dem gezüchteten. Ferner können die therapeutischen und die Reagenzglasversuche auch darum von einander abweichen, weil die verschiedenen Sulfanilamide sich zwischen den Bakterien und den Wirtszellen eigenartig aber verschiedentlich verteilen. Es ist durchaus möglich, dass einzelne in vitro hochwirksame Verbindungen im Organismus darum versagen, weil sie gegenüber der Bakterienzelle geringe Elektivität besitzen und von den Zellen des Wirtes stärker angezogen werden. Auch das Vorhandensein von verschiedenen Stoffen mit Antisulfanilamidwirkung im Organismus — ausser der p-Aminobenzoesäure — ist zu erwägen. Hierüber liegen schon experimentelle Erfahrungen vor; *Martin* und *Fischer*<sup>263</sup> haben gezeigt, dass die therapeutischen Sulfanilamidwirkung vom Adenin ähnlich wie von der p-Aminobenzoesäure vernichtet wird. Merkwürdigerweise bleibt dieser Stoff im Reagenzglas unwirksam.

Die angeführten Möglichkeiten können für den Umstand, dass die In-vivo- und die In-vitro-Versuche nicht immer parallel verlaufen, ausnahmslos von Bedeutung sein. Das ist von der experimentellen Chemotherapie aus gesehen recht bedauerlich, da die kostspieligen und viel Mühe erheischenden Tierversuche nicht durch einfache Reagenzglasversuche ersetzt werden können. Dennoch ist der Wert der In-vitro-Versuche kaum zu unterschätzen, da ihnen bei der Erforschung des Wirkungsmechanismus dieser Verbindungen mindestens dieselbe Bedeutung zukommt wie den Tierexperimenten.