

Zeit für Immunitätsforschung und
experimentelle Therapie
Band 1. No. 5 1909

BREINL

COPY MADE ON
13 AUG 1991

[Aus den Runcorn Research Laboratories der Liverpool School of Tropical Medicine.]

Zum Mechanismus der Atoxylwirkung.

Von A. Breinl und M. Nierenstein.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Januar 1909.)

Im Sommer 1907 wurden im hiesigen Laboratorium Versuche angestellt zwecks Hervorrufung einer passiven Immunität gegenüber Naganatrypanosomen. Es wurden sowohl Kaninchen, Ratten und Mäuse als auch mehrere Esel mit einer Mischung von Atoxyl und Nagana resp. Dourinetrypanosomen injiziert, welche Mischung während verschiedener Zeiträume (bis zu einer Stunde) und bei verschiedener Temperatur (Zimmertemperatur und 37° C) in Kontakt gehalten wurde. Diese Experimente führten zu den Resultaten, daß die Kaninchen, Ratten und Esel nach einer mehr oder weniger verlängerten Inkubationsperiode Trypanosomen in ihrem peripheren Blute zeigten und nach einem normalen Verlaufe der Infektion der Krankheit erlagen. Nur Mäuse verhielten sich in dieser Beziehung verschieden, indem von 6 Mäusen, die mit einer Mischung einer 1-proz. Lösung von Atoxyl und Dourinetrypanosomen enthaltenden Blutes zu gleichen Teilen injiziert worden waren, nur eine einzige, und diese nur während ganz kurzer Zeit (2 Tage), Parasiten in geringer Anzahl im Blute zeigte, während in den übrigen sogar nach monatelanger Beobachtung Parasiten im Blute nie nachgewiesen werden konnten, eine Tatsache, die wohl nur dadurch erklärt werden kann, daß die Trypanosomeninfektion in Mäusen in vieler Beziehung einen etwas modifizierten und leichteren Verlauf nimmt, als in Kaninchen, Ratten und Eseln.

Diese Beobachtungen, daß Atoxyl auf Trypanosomen in vitro keinen Einfluß ausübte, war um so auffällender, als anorganisches Arsen sogar in stärkster Verdünnung auf Trypanosomen in vitro abtötend einwirkt und auch in den Händen Thomas' und Breinls (1904) Atoxyl eine deutliche trypanozide Wirkung im Deckglaspräparate entfaltet hatte.

Spätere Beobachter, wie Ehrlich (1) und Uhlenhuth (2), hingegen konnten diese Eigenschaft nicht feststellen. Die Verschiedenheit der Resultate findet ihre Erklärung wohl nur darin, daß die früheren Atoxylpräparate, wie Nierenstein (3) nachweisen konnte, freie Arsensäure enthielten, während die neueren Präparate keine derartige Verunreinigung aufweisen. Während nun in den ersten Beobachtungen die Wirkung des Atoxyls, des Natriumsalzes der Arsensäure nur auf der Anwesenheit des Arsensäure-Radikals beruhen sollte, wurde in späterer Zeit, so besonders von Mosnil und Nicolle (4), auch Wert gelegt auf die Anwesenheit von Stickstoff sowohl in den trypanoziden Farbstoffen als auch im Atoxyl, und Moore, Nierenstein und Todd (5) gingen so weit, die Amidogruppen in den Farbstoffen als „trypanophobe“ Gruppen zu bezeichnen.

Weitere Untersuchungen Nierensteins (6) haben ferner den Beweis erbracht, daß sich durch die Amidogruppe das Atoxyl mit den Serumproteiden verbindet, und daß ihrer vermittelnden Rolle somit ein großer Wert in der Atoxylbehandlung beizulegen ist, wiewohl letzterer Ansicht später Woithe (7) beipflichtete.

Die Feststellung der Tatsache, daß sich das Atoxyl durch die Amidogruppe mit den Serumproteiden verbindet, gab die Veranlassung zu Versuchen, ob sich die Atoxylserumkombination vielleicht prophylaktisch gegen Trypanosomeninfektion verwenden ließe. Es wurde zu diesem Zwecke eine 5-proz. Atoxyl-Lösung mit der gleichen Menge Eselserum vermischt, durch 24 Stunden im Schüttelapparate belassen und hierauf Ratten subkutan injiziert. Dabei erwies sich die Atoxylserumkombination viel toxischer als eine äquivalente Menge von Atoxyl in physiologischer Kochsalzlösung, indem 1 ccm der Mischung, entsprechend 0,025 g. Atoxyl, das von ausgewachsenen Ratten ohne Schaden vertragen wird, 6 Ratten in wenigen Tagen unter den typischen Erscheinungen der Atoxylvergiftung tötete.

Es schien daher, als ob normales Serum das Atoxyl mit Rücksicht auf seine Toxizität chemisch veränderte. Mit Rücksicht darauf wurden weitere Versuche unternommen, ob vielleicht auch Organemulsionen eine ähnliche Einwirkung auf

das Atoxyl ausübten. Da nun die Leber im Falle einer Atoxylvergiftung gewöhnlich die schwersten Veränderungen aufweist, in Form einer fettigen Degeneration, so wurde eine 5-proz. Atoxylösung in physiologischer Kochsalzlösung mit dem gleichen Gewichte von fein zerhackter Kaninchenleber während 24 Stunden im Schüttelapparate gemischt, die Mischung zentrifugiert und die trübe überstehende Flüssigkeit mit Rücksicht auf ihre Toxizität *in vivo* und *in vitro* untersucht. Dabei konnte einerseits keine Einwirkung auf Trypanosomen im Deckglaspräparate und andererseits auch kein Unterschied gegenüber einer äquivalenten Menge von Atoxyl bei Injektion in Ratten festgestellt werden. Die abzentrifugierte Flüssigkeit wurde ferner auch mit Naganatrypanosomen enthaltendem Blute vermischt, und nach verschiedenzeitigem Kontakt 6 Ratten intraperitoneal injiziert; alle Tiere zeigten nach einer etwas verlängerten Inkubationsperiode Trypanosomen in ihrem Blute und erlagen der Infektion.

Aehnliche Versuche, jedoch mit modifizierter Technik, wurden vor einiger Zeit von Levaditi und Yamanouchi (8) ausgeführt. Sie wurden hierzu durch Ehrlichs (9) Beobachtungen angeregt, daß Benzolarsenderivate den Arsanilsäuren gegenüber einen viel eklatanteren Einfluß auf Trypanosomen *in vivo* und *in vitro* ausübten, was nach Ehrlichs Ansicht auf der niederen Reduktionsstufe der ersteren gegenüber den Arsanilsäuren eventuell beruhen könnte.

Levaditi und Yamanouchi vermischten für diese Versuche eine 4-, 2- resp. 0,2-proz. Atoxylösung mit der gleichen Menge einer Leberemulsion in physiologischer Kochsalzlösung und fanden, daß diese Mischung nach einem zweistündigen Aufenthalte bei 38° C sich außerordentlich toxisch für Trypanosomen erwies, indem dieselbe die Parasiten sofort bewegungslos machte und nach einiger Zeit vollkommen zerstörte.

Die Autoren erklärten diese Resultate durch die Annahme, daß die Leber durch ihr Reduktionsvermögen das Atoxyl in eine trypanolytische Substanz umwandelte, die sie als „Trypanotoxyl“ bezeichneten. Eine ähnliche Eigenschaft besitzt nach ihren Versuchen ebenfalls Lunge und Muskel, während

sich Leukocyten, Niere, Knochenmark, Milz und Rückenmark in dieser Hinsicht negativ verhielten.

Nach dem Erscheinen der Levaditi-Yamanouchischen Arbeit nahmen wir unsere Versuche wieder auf, wobei wir uns vollkommen an die beschriebene Technik anschlossen.

Wir vermischten 10 ccm einer 4-, 2- resp. 0,2-proz. Atoxylösung mit der gleichen Menge einer Emulsion von Kaninchenleber in physiologischer Kochsalzlösung und setzten diese Mischung für 2 Stunden einer Temperatur von 37° C aus. Hierauf wurden die Mischungen mit Rücksicht auf ihren trypanoziden Einfluß im Deckglaspräparate untersucht.

In dem ersten diesbezüglichen Experimente konnten wir feststellen, daß die Mischung beinahe gar keinen Effekt auf die Trypanosomen ausübte; in einem späteren analogen Experimente hingegen konnten wir die Levaditi-Yamanouchischen Beobachtungen vollkommen bestätigen¹⁾.

Von der Voraussetzung ausgehend, daß wir vielleicht das „Trypanotoxyl“ von der Leber-Atoxylmischung trennen könnten, dialysierten wir das Reaktionsgemisch gegenüber Leitungswasser. Ein Teil des Dialysates wurde auf dem Wasserbade eingeeengt und in isotomischer Lösung zu trypanosomenhaltigem Blute hinzugefügt, wobei wir beobachten konnten, daß das Dialysat Trypanosomen mit der gleichen Rapidität abtötete und auflöste, wie das ursprüngliche Leber-Atoxylgemisch.

Ein weiterer Teil des Dialysates wurde nach Ansäuern mit Schwefelwasserstoff behandelt; es konnte deutlich anorganisches Arsen ausgefällt, werden. Das Atoxyl, welches für diese Versuche verwendet wurde, war vollkommen frei von jeglicher Beimischung von anorganischem Arsen.

Wir wiederholten diese Versuche einige Male — wobei wir jedesmal neue Kaninchenleber verwendeten — mit verschiedenen Resultaten, siehe Tabelle I, p. 624.

Die folgende Tabelle zeigt deutlich, daß nur in jenen Fällen, in denen anorganisches Arsen in der filtrierten resp. dialysierten Leber-Atoxylmischung nachgewiesen werden konnte, dieselbe

¹⁾ Dieser Unterschied der Resultate beruht wohl auf der Verschiedenheit der Kaninchenleber mit Rücksicht auf Fütterung, Jahreszeit etc.

auch einen deutlichen trypanoziden Einfluß im Deckglaspräparate ausübte, während bei Abwesenheit dieses die Mischung Trypanosomen gar nicht beeinflufte.

Als Fortsetzung dieser Versuche ließen wir Leberemulsion in physiologischer Kochsalzlösung auf die gleiche Menge einer, wie oben ausgeführt, präparierten Atoxyl-Serumkombination, die wir in Zukunft der Kürze halber als „Atoxylserum“ bezeichnen wollen, einwirken. Es wurde einerseits Serum eines mit Trypanosoma Brucei infizierten Esels, und andererseits normales Eselserum verwendet.

Das Serum wurde mit der gleichen Menge einer 5-proz. Atoxylösung vermischt, während 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Schüttelapparate belassen, und hierauf der Uberschuß von freiem Atoxyl gegen einen kontinuierlichen Strom von Leitungswasser dialysiert. Nach 3—4 Tagen ließ sich in der Regel kein freies Atoxyl mehr im Dialysate nachweisen.

Die Probe wurde in der Weise ausgeführt, daß 50 ccm des Dialysates zur Trockenheit im Kjeldahl-Kolben eingedampft, hierauf mit 30 ccm arsenfreier konzentrierter Schwefelsäure versetzt wurden, um das Atoxyl zu zerstören. Der Rückstand wurde dann nach der von Nierenstein (6) modifizierten Gutzeit-Sangerschen Methode auf Arsen geprüft.

100 ccm des so erhaltenen Atoxylserums wurden mit 100 ccm von Kaninchenleberemulsion vermischt und während zweier Stunden einer Temperatur von 37° C ausgesetzt. Das Gemisch wurde hierauf dialysiert; das Dialysat zeigte nach 2 Stunden mit Schwefelwasserstoff deutlich freies Arsen, während das zu gleicher Zeit angesetzte Atoxylserum ohne Zusatz von Leberemulsion keine Spur einer solchen Reaktion zeigte.

Zu gleicher Zeit wurden Versuche angestellt, in denen anstatt Leberemulsion, aus später anzuführenden Gründen, Wasserstoffsuperoxyd dem Atoxylserum beigefügt wurde. Auch hierbei konnte im Dialysate nach einem 2-stündigen Aufenthalte bei 37° C mittels Schwefelwasserstoffes freies Arsen nachgewiesen werden. Tabelle II zeigt die Resultate dieser Versuche.

Tabelle I.

	Leberemulsion	Verdünnung des Atoxyls	Trypanosomenstamm	Wirkung	Arsenbefund
Experiment I	10 ccm	10 ccm einer 4-proz. Lösung	Tryp. Brucei	Tryp. noch beweglich nach 1 1/2 Stunden	negativ
	10 "	10 " " 2 " "	" "	desgl.	"
	10 "	10 " " 0,2 " "	" "	desgl.	"
Experiment II	10 "	10 " " 4 " "	" "	Tryp. sofort bewegungslos	stark positiv
	10 "	10 " " 2 " "	" "	desgl.	positiv "
	10 "	10 " " 0,2 " "	" "	Tryp. bewegungslos nach 10 Minuten	positiv
Experiment III	10 "	10 " " 4 " "	" dimorphon	Tryp. noch beweglich nach 1 Stunde	negativ
	10 "	10 " " 2 " "	" "	desgl.	"
	10 "	10 " " 0,2 " "	" "	desgl.	"
Experiment IV	10 "	10 " " 4 " "	" Evansi	Tryp. bewegungslos nach 2—3 Minuten	deutlich positiv
	10 "	10 " " 2 " "	" "	} Tryp. bewegungslos nach 10—15 Minuten	" "
	10 "	10 " " 0,2 " "	" "		positiv
Experiment V	10 "	10 " " 4 " "	" Brucei	} Tryp. noch lebhaft beweglich nach 1 1/2 Stunden	negativ ¹⁾
	10 "	10 " " 2 " "	" "		"
	10 "	10 " " 0,2 " "	" "	"	"
Experiment VI	10 "	10 " " 4 " "	" Evansi	} Tryp. bewegungslos nach 10—15 Minuten	positiv ¹⁾
	10 "	10 " " 2 " "	" "		"
	10 "	10 " " 0,2 " "	" "	Tryp. unbeweglich nach 45 Minuten	"
Experiment VII	10 "	10 " " 4 " "	" "	} Tryp. noch beweglich nach 1 1/2 Stunden	negativ
	10 "	10 " " 2 " "	" "		"
	10 "	10 " " 0,2 " "	" "	"	"

1) Siehe Fußnote p. 627.

Tabelle II.

Atoxylserum	Leberemulsion	Wasserstoffsuperoxyd	Arsenbefund im Dialysate mittels H_2S
Infiziertes Serum 100 cem	100 cem	ϕ	deutlich positiv
" " 20 "	ϕ	ϕ	negativ
" " 50 "	ϕ	10 cem	positiv
Normales Serum 100 "	100 cem	ϕ	deutlich positiv
" " 20 "	ϕ	ϕ	negativ
" " 50 "	ϕ	10 cem	positiv

Zur Lösung der Frage nach der Quantität des Arsens, welche durch Leberemulsion aus dem Atoxylserum in Freiheit gesetzt wird, wurden 200 cem normalen Eselserum mit 200 cem einer 5-proz. Atoxylösung durch 48 Stunden im Schüttelapparate belassen und hierauf durch 3 Tage gegen fließendes Wasser dialysiert, bis sich im Dialysate mittels der oben beschriebenen Methode kein freies Atoxyl mehr nachweisen ließ. 200 cem des so präparierten Atoxylserums wurden mit 200 cem der Kaninchenleberemulsion versetzt und während 24 Stunden einer Temperatur von 37° C ausgesetzt. Nach Dialysierung der Mischung gegen 800 cem destillierten Wassers wurde das Dialysat auf 50 cem eingeeengt, angesäuert und das Arsen mittels Schwefelwasserstoffes ausgefällt, der Niederschlag im Goach filtriert und mit Salpetersäure oxydiert. Zur Neutralisation wurde Natriumkarbonat verwendet. Nach Reduktion der Lösung mittels schwefeliger Säure wurde mit $\frac{1}{100}$ -normaler Jodlösung titriert, wozu 8,7 cem Jodlösung verbraucht wurden, was 0,0042 g As_2O_3 entspricht.

Da das Freiwerden des Arsens aus dem Atoxyl eventuell auf einem Oxydationsvorgang beruhen konnte, wurden Versuche in der Richtung unternommen, ob vielleicht auch Wasserstoffsuperoxyd imstande wäre, eine der Leberemulsion analoge Einwirkung auf das Atoxyl zu entfalten. Geleitet wurden wir zu dieser Schlussfolgerung durch die Dakinschen (10) Arbeiten, welche bewiesen, daß Fettsäuren durch Wasserstoffsuperoxyd in derselben Weise oxydiert werden, wie im lebenden Organismus. Und wir konnten tatsächlich feststellen, daß Wasserstoffsuperoxyd imstande ist, aus dem Atoxyl Arsen abzuspalten. Tabelle III zeigt in Kürze die erhaltenen Resultate.

Tabelle III.

Atoxylösung	Wasserstoffsuperoxyd	Arsenbefund durch H_2S
20 cem einer 4-proz. Lösung	3 cem	stark positiv
10 " " 2 " "	3 " "	" "

Wiederholung dieses Versuches gab dieselben Resultate. Nachdem wir somit bewiesen hatten, daß es leicht gelingt, mittels Oxydationsreagentien, wie Wasserstoffsuperoxyd, aus dem Atoxyl Arsen abzuspalten, untersuchten wir den Einfluß von Oxydationsfermenten der Oxydasen sowohl der Leber, als auch pflanzlicher Oxydasen auf Atoxyl.

Es wurden nach der Bachschen (11) Methode Oxydase aus Leber und aus schwarzem Tee präpariert und mit Hilfe derselben den früheren analoge Versuche unternommen. Dabei zeigte sich, daß sowohl tierische als auch pflanzliche Oxydase imstande ist, jedoch in viel geringerem Grade als Wasserstoffsuperoxyd aus dem Atoxyl Arsen abzuspalten. Siehe Tabelle IV.

Tabelle IV.

Oxydase	Atoxylösung 1%	Arsenbefund mittels H_2S
aus Tee 10 cem	10 cem	negativ
" " 20 "	10 "	" "
" " 30 "	10 "	" "
" " 40 "	10 "	" "
" " 60 "	10 "	positiv
aus Leber ¹⁾ 10 cem	10 cem	negativ
" " 20 "	10 "	" "
" " 30 "	10 "	" "
" " 40 "	10 "	" "
" " 50 "	10 "	positiv
" " 60 "	10 "	" "

¹⁾ In den Kaninchenlebern, welche zu Experiment V und VI, Tabelle I, verwendet wurden, wurde eine quantitative Bestimmung der Leberoxydase vorgenommen. Hierzu wurde die Leber mit 100 cem 40-proz. Alkohols durch 24 Stunden extrahiert, filtriert und die Oxydase mit 40 cem absoluten Alkohols gefällt. Dieselbe wurde hierauf in 250 cem Wassers gelöst, 100 cem der Oxydase wurden mit 100 cem 1-proz. Pyrogallol-lösung durch 24 Stunden bei 37° C digeriert, das gebildete Purpurogallin im Goach abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und hierauf bei 40° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Leber von Kaninchen V gab 0,0014 g Purpurogallin, die von Kaninchen VI 1,1594 g Purpurogallin.

Auf eine nähere Erklärung dieser Versuche werden wir später zurückkommen.

Nachdem wir die Einwirkung von oxydativen Fermenten auf Atoxyl untersucht hatten und dabei nachweisen konnten, daß durch dieselben Arsen aus dem Atoxyl abgespalten wird, war das weitere Bestreben darauf gerichtet, zu ermitteln, ob vielleicht auch die reduktiven Fermente, wie z. B. die Reduktasen, das Atoxyl in analoger Weise spalten.

Zur Herstellung der Reduktase wurde käufliche Hefe verwendet; diese wurde mit Kochsalzlösung für 4 Stunden bei Zimmertemperatur digeriert und hierauf filtriert. Das Filtrat zeigte deutlich eine positive Philothionreaktion für Reduktase. [Vergl. Czapek (12).]

Die so präparierte reduktasenhaltige Flüssigkeit wurde mit 10 ccm einer Atoxylösung von verschiedener Konzentration versetzt und nach 2-stündigem Aufenthalt bei 37° C mit Rücksicht auf ihre Wirksamkeit auf trypanosomenhaltiges Blut und auch auf ihren Gehalt an freiem Arsen geprüft.

Mit dem Reste wurde die Hoffmannsche Anilinreaktion vorgenommen. Siehe Tabelle V.

Tabelle V.

Atoxylösung	Hefeextrakt	Wirkung auf Tryp. Evansi	Arsenbefund	Anilinbefund
10 ccm einer 4-proz. Lösung	3 ccm	Tryp. noch beweglich nach 2 Std.	Spuren	negativ
10 ccm einer 2-proz. Lösung	3 "	Tryp. unbeweglich nach 45 Min.	positiv	schwach positiv
10 ccm einer 0,2-proz. Lösung	2 "	Tryp. unbeweglich nach 1 Std.	"	schwach positiv

Auffällig war in diesem Versuche die Tatsache, daß das Hefeextrakt aus der 4-proz. Atoxylösung viel weniger Arsen in Freiheit setzte als aus den weniger konzentrierten Lösungen. Als Erklärung dafür könnte vielleicht die Annahme dienen, daß das, in der höher konzentrierten Lösung anfänglich lebhafter abgespaltene Arsen die Reduktase abtötete und so eine weitere Einwirkung inhibierte. Auffällig war fernerhin die Anwesenheit von freiem Anilin in der Mischung.

Zur Bekräftigung dieser Beobachtung wurde folgende Versuchsanordnung unternommen: 300 g käuflicher Hefe wurden mit 400 ccm Kochsalzlösung über Nacht bei Zimmertemperatur extrahiert. 150 ccm des Filtrates wurden mit 150 ccm 2½-proz. Atoxylösung vermischt und durch 24 Stunden bei 37° C stehen gelassen. Die Lösung wurde hierauf alkalisch gemacht und im Wasserdampfe destilliert. Das Destillat gab deutlich die Hoffmannsche Reaktion auf Anilin. Im abgekühlten Rückstande konnte nach Ansäuern mittels Schwefelwasserstoffes Arsen gefällt werden¹⁾.

Theoretische Betrachtung.

Versucht man nun, die oben angeführten Experimente von einem einheitlichen Gesichtspunkte aus zu betrachten und sich über den Mechanismus der pharmakologischen Wirkung des Atoxyls auf die Trypanosomen klar zu werden, so kann man wohl die ursprüngliche Auffassung, daß das Atoxyl als solches direkt als inneres Desinfiziens wirkt, leicht von der Hand weisen; denn in diesem Falle müßte dasselbe wohl auch in vitro einen deutlich parasitiziden Einfluß ausüben, was ja, wie schon früher erwähnt, durch zahlreiche Beobachtungen widerlegt worden ist.

Es muß also jedenfalls das Atoxyl im Organismus durch Veränderungen untergehen, wobei es unter dem Einflusse der Zelltätigkeit die Eigenschaft erhält, die Parasiten im Blute abzutöten. Ehrlich, des ferneren Levaditi und Yamamoto haben nun als solches eine hypothetische Reduktionsstufe angenommen, welcher von den letzteren Autoren der Name „Trypanotoxyl“ beigelegt wurde.

Nach unseren Versuchen scheint die Annahme eines komplizierten Reduktionsproduktes des Atoxyls überflüssig zu sein. Dieselben zeigen vielmehr, daß nur in jenen Fällen, in denen durch die Leberemulsion Arsen von dem Atoxyl abgespalten wurde, das Reaktionsgemisch eine deutliche trypano-

¹⁾ Friedbergers (13) Beobachtungen, daß Atoxyl nach Zusatz von Thioglykolsäure trypanozide Eigenschaft in vitro erhält, beruht wahrscheinlich auf einem ähnlichen Reaktionsvorgang.

zide Eigenschaft besaß, während im Falle der Abwesenheit des Arsens in der Lösung kein abtötender Einfluß auf die Parasiten festgestellt werden konnte.

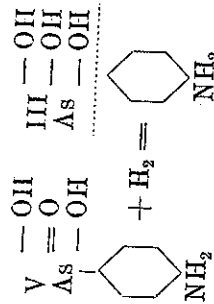
Diese Beobachtungen weisen also darauf hin, daß zwischen der Arsenabspaltung durch die Leberemulsion und der Einwirkung des Atoxyls auf Trypanosomen *in vitro*, und aller Wahrscheinlichkeit nach in ausgedehnterem Maße auch *in vivo* ein Einklang bestehen muß. Es ist nun sehr nahe liegend, anzunehmen, daß in der Leber hauptsächlich das organische Ferment, die Oxydase, die ja auch sonst im Organismus ziemlich verbreitet ist, diese Spaltung des Atoxyls herbeiführt, eine Annahme, welche durch unsere Resultate gestützt wird. Demnach wäre also die Atoxylwirkung im Organismus als ein einfacher Oxydationsprozeß aufzufassen, durch den aus dem Atoxyl das Arsen unter Verbrennung des Benzolkernes in Freiheit gesetzt wird. So ist es uns auch gelungen, das Atoxyl durch die oxydierende Wirkung von Schimmelpilzen in analoger Weise zu spalten.

Wir stellen uns also den Mechanismus der Atoxylwirkung in der Weise vor, daß sich dasselbe durch die freie Amidogruppe mit den Serumproteiden verbindet und daß dieses Atoxylserum indirekt auf die Trypanosomen einen Einfluß ausübt, indem vermittels der oxydativen Fermente des Organismus und auch durch die Trypanosomen selbst Arsen in Freiheit gesetzt wird, das *in statu nascendi* die Abtötung der Parasiten herbeiführt. Wäre die Amidogruppe also der chromophoren Gruppe eines Farbstoffes zu vergleichen, so kommt den Serumproteiden die Rolle einer Beize zu. Diese Auffassung erhält eine Stütze durch die von anderen und uns selbst gemachte Beobachtung der Atoxylfestigkeit und könnte als Erklärung für die Tatsache angeführt werden, daß Trypanosomen die Eigenschaft der Atoxylfestigkeit in ausgesprochenem Maße nur für eine gegebene Tierspecies zeigen, da die Parasiten nur gegen die eine Atoxylproteininkombination eine Immunität erworben haben.

Der Befund von freiem Arsen im Urin nach Atoxylreichung ist eine fernere Stütze für die Annahme, daß das Atoxyl im Organismus eine Oxydation erleidet.

Neben diesem Oxydationsvorgange, welcher zur Bildung eines fünfwertigen Arsens führt, geht gleichzeitig auch ein Reduktionsprozeß, in aller Wahrscheinlichkeit fermentativer Natur, im Organismus vor sich, wie wir es in analoger Weise mittels Hefe *in vitro* nachweisen konnten, welcher zur Bildung eines dreiwertigen Arsens *in statu nascendi* führt. Es spalten die Reduktasen das Atoxyl in Arsen resp. arsenige Säure und Anilin.

Der Prozeß verläuft wahrscheinlich folgendermaßen:



Und es ist dem einen von uns auch gelungen, freies Anilin nur in Faeces (6) eines Pferdes, das längere Zeit unter Atoxylbehandlung stand, und weiterhin auch in den Faeces eines Affen nachzuweisen, ein Beweis dafür, daß dieser Prozeß in der Tat im Organismus vor sich geht.

Zusammenfassung.

- I. Das Atoxyl verbindet sich zum Teil durch die Amidogruppe mit den Serumproteiden.
- II. Durch einen Oxydationsprozeß, sowohl durch die oxydativen Fermente als auch wahrscheinlich durch die Trypanosomen selbst wird das Atoxylserum oxydiert und Arsen in Freiheit gesetzt unter Verbrennung des aromatischen Kernes.
- III. Zur selben Zeit geht auch ein Reduktionsprozeß vor sich, durch den das Atoxyl in arsenige Säure und Anilin gespalten und das Anilin durch die Faeces ausgeschieden wird.
- IV. Das, zum Teil durch oxydative, zum Teil durch reduktive Fermente und wahrscheinlich auch durch die Try-

panosomen in Freiheit gesetzte Arsen in statu nascendi übt den zerstörenden Einfluß auf die Parasiten aus.

Literatur.

- 1) Ehrlich, Chemotherapeutische Trypanosomenstudien. Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 9—12.
- 2) Uhlenhuth, Hübener und Witthe, Experimentelle Untersuchungen über Dourine mit besonderer Berücksichtigung der Atoxylbehandlung. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 26, Heft 2, 1907.
- 3) Nierenstein, Chemical Notes on Atoxyl. Annals of Trop. Med. and Parasit., Vol. 2, 1909, No. 4.
- 4) Mesnil et Nicolle, Traitement des Trypanosomiasis. Annals Pasteur, Année 20, p. 417, 513.
- 5) Moore, Nierenstein and Todd, Concerning the treatment of experimental Trypanosomiasis. Ann. of Trop. Med. and Parasit., Vol. 2, 1909, No. 4.
- 6) Nierenstein, Chemotherapeutical studies of Atoxyl and Trypanocoides, Part I and II. Ann. of Trop. Med., Vol. 2, 1908—1909, No. 3, 4.
- 7) Witthe, Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte, 1908.
- 8) Levaditi et Yamanouchi, Mécanisme d'action de l'Atoxyl dans les Trypanosomiasis. Comptes rendus de la Soc. de Biol., Tome 65, 1908, p. 23.
- 9) Ehrlich, Ueber moderne Chemotherapie. Verändl. der Deutschen dermatolog. Gesellschaft, 1908.
- 10) Dakin, Journal of Bio-Chemistry, I, (1906), p. 171, IV, (1907), p. 419, IV, (1908), p. 221, 227.
Vergl. auch Nierenstein, Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft, Jahrg. 41.
- 11) Bach, Berichte d. Deutsch. chem. Gesellschaft, 1906, 1907.
- 12) Czapek, Biochemie der Pflanzen, Bd. 2, p. 487.
- 13) Friedberger, E., Ueber die Behandlung der experimentellen Nagana mit Mischungen von Atoxyl und Thioglykolsäure. Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 38.

[Aus dem Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M.; Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich.]

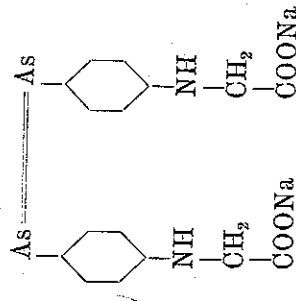
Heilversuche mit Arsenophenylglycin bei Trypanosomiasis.

Von W. Rochl.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Januar 1909.)

Wie Ehrlich in seinen Vorträgen in der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft und in der Deutschen Chemischen Gesellschaft¹⁾ mitgeteilt hat, ist von uns eine große Reihe von Derivaten der Phenylarsinsäure auf ihre Heilwirkung bei experimenteller Trypanosomiasis geprüft worden.

Am wirksamsten hat sich bisher bei den verschiedenen Tierspecies und den verschiedenen Trypanosomenarten das Arsenophenylglycin erwiesen, das von Dr. Bertheim im Georg-Speyer-Hause dargestellt wurde:



Der Aufbau des Präparates erfolgte von zwei Gesichtspunkten aus:

- 1) war es erwünscht, eine Substanz anzuwenden, die durch den Besitz der dreiwertigen Arsengruppe eine direkte Wirkung auf die Trypanosomen auszuüben imstande wäre, und
- 2) mußte durch Einführung besonderer Gruppen der dem dreiwertigen Arseurest als solchem anhaftende Charakter einer hohen Giftigkeit und starken lokalen Reizwirkung genommen werden.

¹⁾ Verhandl. d. Deutsch. Dermatol. Gesellschaft. 10. Kongress 1908; Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellschaft, XLII, Heft 1, 1909.