

Mechanismus der direkten Wirkung des Sulfanilamid.

1. Morphologische und biologische Zeichen der direkten Wirkung.

Der Ehrlichsche Begriff „parasitotrop“ bedeutet eine besondere Affinität des Chemotherapeuticums zum Plasma des Krankheitserregers, wodurch es zu einer elektiven Speicherung des Chemotherapeuticums im Körper des Erregers kommt. Eine Literaturangabe, die über die „parasitotropen“ Eigenschaften der Sulfanilamide Aufschluss geben könnte, wurde nicht gefunden. Nur in der Arbeit von *Bradbury* und *Jordan*³² findet man einen flüchtigen Hinweis darauf, dass die Sulfanilamide an der Oberfläche der Bakterien, evtl. in spezifischer Weise, angesammelt werden können. *Bradbury* und *Jordan* haben gefunden, dass die Wanderungsgeschwindigkeit der Colibazillen in einem elektrischen Feld durch die Berührung mit Sulfanilamiden geändert wird; während der 350 Minuten dauernden Beobachtung entspricht die Änderung der Geschwindigkeit einer Kurve mit zwei Maximumwerten. Die Verfasser sind der Ansicht, dass diese Änderung der Wanderungsgeschwindigkeit für die Sulfanilamide charakteristisch und dadurch bedingt sei, dass diese Verbindungen an der Zelloberfläche mit ihrer $-NH_2^+$ -Polargruppe spezifisch gebunden werden. Obwohl Metanilamid, Anilin, Benzolsulfamid usw. keine solche typische Änderung der Wanderungsgeschwindigkeit zur Folge haben, glauben wir doch nicht, dass es zwischen den Schwankungen der elektrischen Ladung der Bakterien und der spezifischen Wirkung irgend einen Zusammenhang gebe. Hierfür spricht die Tatsache, dass das *Acetylsulfanilamid* in den Versuchen von *Bradbury* und *Jordan* die Wanderungsgeschwindigkeit ebenso beeinflusste wie das Sulfanilamid; von diesem Mittel ist aber bekannt, dass es auf die Bakterien keine direkte (in vitro) Wirkung hat.

Die *morphologischen Zeichen* der direkten Sulfanilamidwirkung sind recht spärlich, allerdings wurden einige beschrieben. *Vonkenel*, *Kimmig* und *Lembke*,³⁷⁰ ferner *Gärtner*,¹²³ haben mit elektronoptischen Untersuchungen nachgewiesen, dass das Plasma der Gonokokken und anderer Bakterien unter Einwirkung der Sulfanilamide verändert wird. Unter dem Elektronmikroskop ist das Plasma des einer jungen Kultur entnommenen Bakteriums dicht, homogen, strukturlos; hingegen zeigt das der Sulfanilamidwirkung ausgesetzte Bakterium eine charakteristische Struktur auf, überdies sind auch seine Konturen unscharf: es wird dem Bakterium einer alten Kultur ähnlich. *Vonkenel* und seine Mitarbeiter sind der Ansicht, dass es in der Bakterienzelle auf die Wirkung des Sulfanilamid zu einer „frühzeitigen Alterung“ komme.

*Gärtner*¹²³ trachtete die Zellveränderungen unter dem Fluoreszenzmikroskop unmittelbar zu verfolgen. Er ging von der Beobachtung *Struggers*³⁵² aus, dass das mit Acridin-Orange gefärbte Bakterium entsprechend seinem Zustand fluoresziert: das lebende erscheint in grüner, das tote in roter Farbe. *Gärtner* hat festgestellt, dass in den verschiedenen Bakterienkulturen, die mit Sulfanilamid

versetzt werden, die Zahl der rot gefärbten Bakterien entsprechend der Konzentration und der Wirkungsdauer des Mittels zunimmt. Mehrere Umstände sprechen aber gegen die Annahme, dass die Lebensfähigkeit der Bakterien in der Fluoreszenzfarbe zum Ausdruck komme. Zunächst sei darauf hingewiesen, dass in den 24—120 Stunden alten Kontrollkulturen *Gärtners* höchstens 1—3% der Bakterien rot fluoreszierten, obwohl die Zahl der toten Bakterien in solch alten Kulturen unbedingt höher ist.^{308, 385, 386} In seiner Schlussbemerkung macht er das Geständnis, dass ihm die Beziehungen der Fluoreszenz zur Lebensfähigkeit auf Grund seiner weiterer Forschungen nunmehr als zweifelhaft erscheinen.

Beträchtlich mehr Daten beziehen sich auf die Kapsel- und Kettenbildung der Kokken. *Levaditi* und *Vaisman*²¹⁶ (1935) haben die therapeutische Wirksamkeit des Prontosil seinen „akapsulogenen“ Eigenschaften zugeschrieben. Später machten auch andere Forscher (*MacIntosh* und *Whitby*,²⁴⁶ *Telling* und *Oliver*,³⁵⁸ *Hilles* und *Schmidt*,¹⁴⁷ *Mellon* und *McKinney*²⁷³ die Beobachtung, dass in den Organen der mit Sulfanilamiden behandelten Tiere einzelne Strepto- und Pneumokokken ihre Kapsel verloren haben oder die Kapsel eigenartig verändert wurde. Die Veränderung wird von *MacIntosh* und *Whitby*²⁴⁶ wie folgt beschrieben: „The capsule of the pneumococcus appears to be enlarged and to have a rough crenated edge.“ Einige Verfasser haben diese Wirkung der Sulfanilamide auch in vitro gesehen, während andere eine Hemmung der Kapselbildung unter keinen Umständen beobachten.^{101, 151, 234, 319, 321, 323} Einstimmig wurde aber festgestellt, dass die Strepto- und Pneumokokken unter Sulfanilamidwirkung sowohl im Organismus (*Colebrook* und *Kenny*,⁵⁸ *Gay* und *Clark*,¹²² *Long*²³⁴ und seine Mitarbeiter, *Schmith*³²⁸), wie auch in vitro (*Lockwood*,²²⁷ *Chandler* und *Janeway*,⁵³ *Hoyt* und *Levine*¹⁵¹) längere Ketten bilden als gewöhnlich.

Wir wollen uns mit den Variationserscheinungen, die bei den mit Sulfanilamid behandelten Bakterien von einigen Forschern^{147, 212, 147, 363} beobachtet wurden, nicht ausführlich befassen. Es hat den Anschein, dass Variationen ziemlich selten entstehen und nicht stationär werden.

Eine der wichtigsten Fragen vom Gesichtspunkte des Wirkungsmechanismus lautet: *Üben die Sulfanilamide auf den Stoffwechsel der Bakterien eine direkte spezifische Wirkung aus?* Das Problem wurde vor allem mit den Methoden studiert, die sich in der Erforschung der Zelloxydationen bewährt hatten und man versuchte, mit Hilfe der *Warburgs*chen, ferner der *Thunbergs*chen Technik, in das Problem Einsicht zu gewinnen. Die Beobachtungen sind zum Teil einander widersprechend, was auf die technischen Umstände zurückgeführt werden dürfte. Wir fühlen uns gerade wegen dieser Widersprüche veranlasst, uns mit dem Problem ausführlicher zu befassen.

Die ersten einschlägigen Versuche wurden von *Mellon* und *Bambas*²⁷⁰ (1937) durchgeführt. Sie untersuchten die Beeinflussung der Dehydrase des Pneumococcus Typ 1 durch Sulfanilamide. Die Dehydrierung der Glucose wurde vom Sulfanilamid selbst in einer mol/100 Konzentration nicht beeinträchtigt. Dagegen hemmen die auf den Pneumococcus bakterizid wirkenden Stoffe, wie Natriumglycholat, Optochin, Chinin, selbst in grossen Verdünnungen die Glucose-

dehydrierung. Gegen die Staphylococcus-Dehydrase war das Sulfanilamid sogar bei einer Konzentration von 120 mg % (im Falle verschiedener Substrate) unwirksam, die 0,7%-ige Lösung aber übte schon eine geringe Hemmung aus (*Ordal* und *Halvorson*²⁹³). Nach *MacLeod*²⁵¹ wird Glucose vom Pneumococcus bei Vorhandensein von Sulfapyridin ebenso dehydriert wie sonst. Merkwürdigerweise wird aber die Dehydrierung des Glycerin, Lactat und Pyruvat vom Sulfapyridin in einer Verdünnung 1:8000 noch gehemmt. Letztere Beobachtung bedarf noch der Bestätigung, da sie den anderen Literaturangaben widerspricht. Nach *Winkler*³⁸⁷ übt Sulfanilamid auf Bakterien-Dehydrasen keine Wirkung aus. *Váczi* und *Kiss*³⁶⁴ haben beobachtet, dass das Methylenblau bei Vorhandensein von Sulfanilamid von den Staphylo- und Streptokokken *rascher entfällt* wird als in den Kontrollröhrchen.

Unter Anwendung der *Warburgschen* Technik wurde der Sauerstoffverbrauch der sog. *ruhenden* (d. i. *gewaschenen*) Bakterien unter Sulfanilamidwirkung studiert. Die mit gewaschenen Bakteriensuspensionen vorgenommenen Versuche wurden, abgesehen von wenigen Abweichungen, mit übereinstimmenden Ergebnissen abgeschlossen: *Die Atmung der Suspensionen wird vom Sulfanilamid nicht wesentlich gehemmt; eine milde Hemmung wurde von einigen Verfassern beobachtet.* *Barron* und *Jacobs*⁹ haben festgestellt, dass die Atmung der gewaschenen Suspensionen der Coli- und Friedländerbazillen, Gono- und Streptokokken, vom Sulfanilamid (mol/100 Konzentration) überhaupt nicht oder höchstens um 8—23% gehemmt wird. *Lajos*²⁹⁹ stellte Versuche mit den gewaschenen Suspensionen der zu verschiedenen Typen gehörenden Pneumokokken an; als Substrat wurde Glucose oder Lactat und Pyruvat verwendet. Bei Vorhandensein von 0,001% Sulfapyridin wurde der Sauerstoffverbrauch, entsprechend den verschiedenen Versuchen, um 9—54% herabgesetzt. Eine geringfügige Hemmung der Atmung der gewaschenen Suspensionen wurde auch von *Váczi* und *Kiss*³⁶⁴ beobachtet; das Sulfamethylthiazol hatte 26%, Sulfapyridin 15%, Sulfanilamid 13% Hemmung zur Folge. *Váczi* und *Kiss* verwendeten ziemlich hohe Konzentrationen der geprüften Verbindungen (500 mg %). Nach *Hirsch*¹³⁸ werde die Atmung der ruhenden Staphylokokken vom Sulfamethylthiazol bis zur Konzentration 1:3.900 nicht beeinflusst, während Desinfizierungsmittel, wie Rivanol oder Sublimat, schon in erheblich niedrigeren Konzentrationen wirksam sind. Ausser den erwähnten haben auch *Schöring*,³³⁰ *Frei*,¹¹¹ *Winkler*³⁸⁷ ferner *Kohn* und *Harris*¹⁹⁷ festgestellt, dass die Atmung der ruhenden Hefezellen oder Bakterien von dem Sulfanilamid überhaupt nicht oder nur unwesentlich beeinträchtigt wird. Mithin lässt sich als Tatsache festlegen, *dass die Sulfanilamide auf die Atmungsfermente der Bakterien keine spezifische Hemmung entfalten.* Die bei der Anwendung von hohen Konzentrationen beobachtete geringfügige Hemmung dürfte kaum als spezifisch angesehen werden.

Im Gegensatz hierzu *wird der Sauerstoffverbrauch der gedeihenden Bakterien von den Sulfanilamiden selbst in grossen Verdünnungen erheblich herabgesetzt.* Von diesem Gesichtspunkt aus sind besonders die systematischen Studien von *Hirsch*¹³⁸ beachtenswert. Nach seiner Feststellung seien Wachstum und O₂-Verbrauch in der

logarithmischen Phase streng parallel. Darum eigne sich die Warburgsche Methode ganz besonders für die Erforschung der einzelnen Phasen der Sulfanilamidwirkung. *Von der Kurve des Sauerstoffverbrauches kann die Wachstumsintensität für jeden Zeitpunkt des Versuchs abgelesen werden. Mit der allmählichen Steigerung der Sulfanilamidkonzentration wird die Kurve immer flacher, und von einer gewissen Konzentration an verläuft sie schon parallel zur Abszisse: die Atmung der Kultur wird stationär wie die der ruhenden Bakteriumsuspension.* Die weitere Erhöhung der Konzentration wirkt ebenso wenig, wie das Sulfanilamid, das der gewaschenen Suspension zugefügt wird. Aus dieser Beobachtung schliesst Hirsch, dass *das Sulfanilamid die Atmungsfermente, die die lebenswichtigen Funktionen der Bakterien (Katabolismus) regeln, nicht schädigt, nur die Plasmasynthese (Anabolismus) hindert.* Nach Erreichung der Sulfanilamidkonzentration, die die Plasmasynthese vollkommen verhindert, ist jeder weitere Sulfanilamid-Überschuss unwirksam. *Dagegen haben die desinfizierenden Mittel (z. B. das Rivanol), entsprechend ihren steigenden Konzentrationen, ein fortschreitendes Absterben der Zellen zur Folge, ohne die Reproduktionszeit der überlebenden wesentlich zu beeinflussen; hier ist also der Katabolismus gehindert, während der Anabolismus unbeeinträchtigt vor sich geht.* Zu einem ähnlichen Schluss gelangten auf Grund ihrer Versuche Kohn und Harris.¹⁹⁷ In sorgfältig ausgeführten Versuchen haben sie festgestellt, dass bei einer milden Sulfanilamidwirkung der Sauerstoffverbrauch der sich vermehrenden Bakterien und ihre Wachstumsintensität genau parallel abnehmen und bei den niedrigen Sulfanilamidkonzentrationen ($m/10^{-4}$ — 10^{-5}) der Sauerstoffverbrauch der einzelnen Bakterien nicht geringer ist als in den Kontrollröhren. Somit liegt dem geringeren O₂-Verbrauch allein die geringere Wachstumsintensität zugrunde. Bei höheren Konzentrationen ist die Atmung der Bakterien anscheinend weniger intensiv, wahrscheinlich wegen der unspezifischen Wirkung des Mittels. Hiervon ausgehend behaupten Kohn und Harris, dass das Sulfanilamid nicht die Atmung der Bakterien, sondern lediglich die Plasmasynthese hemmt.

Entgegen diesen sorgfältigen Versuchen behauptet Illényi,¹⁵⁴ dass das Sulfanilamid unmittelbar auf die Bakterienatmung einwirke, obwohl die von ihm beobachtete Atmungsabnahme zum Teil auch durch die Bakteriostase bedingt sein könne. Illényi versetzte den Agarnährboden mit 0,1%, also einem ziemlich konzentrierten Sulfanilamid, dann beimpfte er den Nährboden mit den Bakterien. Nach 24 Stunden war der Sauerstoffverbrauch um 52% geringer als in der Kontrollkultur. Er gibt allerdings zu, dass der Unterschied zum Teil auf das langsamere Wachstum zurückgeführt werden könne. Wir sind der Ansicht, dass nach Abzug dieses Faktors nur ein unbedeutender Unterschied zurückbleibt. Diese mässige Abnahme des Sauerstoffverbrauches dürfte kaum durch die spezifische Sulfanilamidwirkung bedingt sein, da der Verfasser die Abnahme nach solch hohen Konzentrationen beobachtete, die therapeutisch nicht in Betracht kommen.

Demnach lassen sich die mit der oxydativen Fähigkeit der Bakterienzelle gemachten Beobachtungen, in dem Sinne auswerten, dass *die direkte Sulfanilamidwirkung nicht auf die das Leben des Plasmas sichernden Systeme, sondern auf die an dem Aufbau des*

Plasmas beteiligten Fermente gerichtet sei; dementsprechend komme diesen Mitteln nicht eine bakterizide, sondern eine bakteriostatische Wirksamkeit zu. Schon die ersten Versuche sprachen für eine bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide. Es gab aber Verfasser, die die antibiotischen Eigenschaften der Präparate Bakterizidie nannten. Besonders die Forscher, die ihre Versuche unter besonderen Bedingungen ausführten (z. B. bei höherer Temperatur), glaubten eine bakterizide Wirkung beobachtet zu haben. In dieser Beziehung dürfte der im Blut oder Serum beobachteten bakteriziden Wirkung keine Bedeutung zukommen, da hier ausser den Präparaten auch andere Faktoren mitwirken: Die Ergebnisse werden von den bakteriziden Stoffen des Serums und auch von den Leukozyten beeinflusst. Dass die Bakterien, die mit einem Sulfanilamidpräparat lange in Berührung stehen, zugrunde gehen, wurde auch von uns veranschaulicht (Tabelle 15.). Auf Grund ähnlicher Versuche wird den Sulfanilamiden auch heute noch vielerorts eine bakterizide Wirkung zugeschrieben. Die *primäre* Sulfanilamidwirkung ist keine bakterizide, sondern eine bakteriostatische Wirkung. Dies erhellt nicht nur aus den besprochenen Respirationsversuchen, sondern auch aus anderen Beobachtungen. Dennoch wurden schon im Jahre 1940 Versuche veröffentlicht, die als Beweise der Bakterizidie aufgefasst wurden. So behauptet z. B. *Libby*,²²⁰ dass die nephelometrische Bestimmung der Zahl der in den sulfanilamidhaltigen Nährböden gezüchteten Bakterien von der durch Keimzählung erhaltenen schon kurz nach der Beimpfung abweicht. Diese Differenz nimmt mit der Versuchszeit allmählich zu. Den Grund hierfür erklärt er damit, dass ein Teil der Bakterien infolge der bakteriziden Sulfanilamidwirkung ständig getötet wird und, da diese aus der Fortpflanzung ausgeschaltet werden, das Wachstum der ganzen Kultur sich allmählich verlangsamt.

Entgegen dieser Behauptung sprechen zahlreichen frühere Beobachtungen dafür, dass es sich um eine bakteriostatische Wirkung handelt und in diesem Sinne lassen sich auch die Atmungsversuche auswerten. Nun können aber alle Gegenansichten durch die 1941 veröffentlichten Ergebnisse von *Kohn* und *Harris*¹⁹⁷ widerlegt werden. Sie haben nämlich eine die Vermehrung der Bakterien ausdrückende Konstante ermittelt, wodurch diese Frage fast mit der Exaktheit der chemischen Kinetik studiert werden konnte. Sie bestimmten die Geschwindigkeit des Bakterienwachstums für die einzelnen Versuchsphasen mit Hilfe der Keimzählung und photometrisch. Die Versuche wurden mit Colibazillen, parallel in einem synthetischen, aus einem Glucose-Salzgemisch bestehenden Nährboden und Peptonwasser angestellt. Im ersten Nährboden verlangt das Bakterienwachstum, also die Plasmasynthese, eine synthetische Höchstleistung (maximal synthetic effort) von der Zelle, während in dem Peptonwasser, wo die Zelle einen Teil ihrer Bausteine in fertigem Zustand bekommt, die Synthese vom *Bacillus* eine erheblich leichtere Aufgabe verlangt. Die Verfasser geben die Wachstumsintensität, auf einen gewissen Zeitpunkt bezogen, mit der Konstante der Wachstumsgeschwindigkeit an. Diese Zahl bedeutet den Prozentsatz der sich zur betreffenden Zeit im Laufe einer Minute teilenden Bakterien. Auf diese Weise haben sie festgestellt, dass die Bakterien sich am

Anfang des Versuches in der Anwesenheit des Sulfanilamid mit derselben Geschwindigkeit vermehren wie in den Kontrollröhren. Die bremsende Wirkung des Sulfanilamid erscheint erst nach dem Ablauf von 60—100 Minuten, dann verlangsamt sich allmählich die Teilungsgeschwindigkeit und die maximale Hemmung tritt — entsprechend der Sulfanilamidkonzentration — nach 3—4 Stunden ein. Ist die Sulfanilamidkonzentration hoch, so kann die Geschwindigkeitskonstante mit dem Eintritt der maximalen Hemmung nahe Null sein, d. h. das Wachstum kommt zu einem Stillstand. *Merkwürdigerweise ist der Eintritt der Bakteriostase von der Inoculumgröße, innerhalb einer gewissen Grenze, unabhängig; die Wachstumsgeschwindigkeit wird im Falle eines kleinen und eines grossen Inoculums gleicherweise gehemmt. Da aber diese maximale Hemmung erst nach einer gewissen Latenz allmählich eintritt, können am Ende der Latenzzeit die Bakterien so viel Teilungen durchgemacht haben, dass die Kultur-dichte der einer sich hemmunglos entwickelnden Kultur entspricht.* Ähnliche Beobachtungen machten auch *Rose* und *Fox*,³¹¹ der *Coli-bacillus* macht in einem synthetischen Nährboden bei 5×10^{-4} Sulfanilamidkonzentration bis zum Stillstand der Vermehrung 5,6—7,1 Teilungen durch. Dies bezieht sich gleicherweise auf das kleine und das grosse Inoculum. Nach *Kohn* und *Harris* hänge die durchschnittliche Fortpflanzungsgeschwindigkeit von der Konzentration des Sulfanilamidpräparates — und auch von der Art des Präparates — ab.

Daraus folgt: *die direkte Wirkung der Sulfanilamidderivate richtet sich gegen die Fortpflanzung der Bakterien, also gegen die Fermentsysteme, die nicht den individuellen Stoffwechsel, sondern die Plasmasynthese d. h. die Reproduktion katalysieren.* Diese Hemmung kommt aber erst nach einer gewissen Latenzzeit zur Geltung. Schliesslich gehen die Bakterien im Gefolge dieser primären Wirkung zugrunde. Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, dass es sich nur um eine scheinbare Bakterizidie handelt, die durch das Aufhören der Plasmasynthese bedingt, also als eine sekundäre Wirkung anzusehen ist. Auf die Einzelheiten diese Problems kommen wir noch zu sprechen.

2. Ist das p-Aminobenzolsulfonamid Träger der direkten Wirkung?

Die Frage erscheint seltsam, nachdem die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamidderivate im vorigen festgestellt wurde. Im folgenden wird es sich zeigen, dass die Frage dennoch auf Grund gewisser Beobachtungen lange berechtigt war. Die Ansicht, dass eigentlich nicht das p-Aminobenzolsulfonamid, sondern sein im Organismus oder im Reagenzglas entstehendes Produkt die Wirkung ausübe, wurde zum ersten Mal 1937 von *Mayer*²⁶⁸ betont. Er hat gefunden, dass die Streptokokkensepsis der Maus von dem p-Nitrobenzolsulfonamid ($O_2N \cdot C_6H_4 \cdot SO_2NH_2$) besser beeinflusst wird als vom Sulfanilamid, ferner, dass diese Verbindung im Reagenzglas vollkommen unwirksam ist, während das Sulfanilamid unter denselben Umständen bis zur Verdünnung 1:5000 bakteriostatisch wirkt. Den auffallenden Unterschied zwischen der

In-vivo- und In-vitro-Wirkung wollte er mit der Annahme erklären, dass keiner dieser Stoffe das wirksame Prinzip darstelle, sondern eines von ihren gemeinsamen Oxydations- bzw. Reduktionsprodukten. Folgende Verbindungen kommen in dieser Beziehung in Betracht: p-Hydroxylaminobenzolsulfonamid, p-Hydrazobenzolsulfonamid, p-Azoxybenzolsulfonamid, p-Nitrosobenzolsulfonamid. Von diesen Verbindungen war in vitro das p-Hydroxylaminobenzolsulfonamid die wirksamste. Ihre bakterizide Wirkung war in Serumbouillon und in wässrigem Medium 10—100-mal stärker als die des Sulfanilamid weshalb angenommen wurde, dass diese Verbindung das wirksame Umwandlungsprodukt darstelle. Da im Organismus das p-Nitrobenzolsulfonsäureamid besser wirkt als das Sulfanilamid, werde die erste Verbindung im Organismus leichter zum Hydroxylamin verwandelt als die zweite. Diese Auffassung fand zahlreiche Anhänger, besonders unter den amerikanischen Verfassern. *Mellon* und seine Mitarbeiter versuchten sogar, der direkten Sulfanilamidwirkung obige Theorie zugrunde zu legen.

Nach *Shaffer*^{339, 340} besitzt das oxydierte Sulfanilamid (das Hydroxylamino oder Nitroso Analogon) sowohl unter aeroben wie auch unter anaeroben Verhältnissen eine energische bakterizide Wirkung, während das Sulfanilamid über diese Eigenschaft nur in geringem Ausmasse verfügt. Er beobachtete ferner, dass das p-Nitrobenzolsulfonamid vom Gewebsbrei zum entsprechenden Hydroxylamin reduziert wird. Ohne dem Sulfanilamid seine Wirksamkeit absprechen zu wollen, hält er diese Substanz für weniger wirksam als ihr Oxydationsprodukt. *Fox*^{108, 109} war der Ansicht, dass die Latenzzeit, nach deren Ablauf die bakteriostatische Wirkung des Sulfanilamid zur Geltung kommt, für die Oxydation des Sulfanilamid zu einem wirksamen Stoff nötig sei. Aus demselben Grund nehme der Wert des Oxydationspotentials in den sulfanilamidhaltigen Kulturen ab, während er in den Kontrollkulturen ansteige. Schliesslich behauptet er — andere Verfasser konnten aber diese Auffassung nicht bestätigen — dass das Sulfanilamid bei vollständiger Anaerobiose nicht wirksam sei. Für seine Auffassung schien die Tatsache zu sprechen, dass die bakteriostatische Wirkung des p-Hydroxylaminobenzolsulfonamids sofort, ohne Latenzzeit zur Geltung kommt.

Mellon, Shinn, Main und *Locke*^{224, 225, 226, 255, 256, 257, 341, 342, 343} haben nach serienweisen Studien den Standpunkt eingenommen, dass das p-Hydroxylaminobenzolsulfonamid sowohl in vitro als auch in vivo gebildet wird. Auch die mit ultravioletten Strahlen behandelte Sulfanilamidlösung wird zum Teil zu dieser Verbindung oxydiert. Die Mengen des gebildeten Hydroxylamins verhalten sich wie die Bestrahlungszeiten. Die entstandene Menge könne einige Prozente der Muttersubstanz betragen. Eine ähnliche Verwandlung des 4,4'-Diaminodiphenylsulfons wurde ebenfalls festgestellt, hingegen konnten sie den Prozess für das Sulfapyridin nicht nachweisen. Zur quantitativen Bestimmung des p-Hydroxylaminobenzolsulfonamids wurde das *Rosenthal-Baur*sche³¹⁵ kolorimetrische Verfahren herangezogen.

Die Annahme, dass aus dem Sulfanilamid in dem Organismus bzw. der Bakteriumzelle das entsprechende Hydroxylamin entsteht, erklärt, nach *Mellon* und seinen Mitarbeitern, auch den Wirkungs-

mechanismus der Sulfanilamidderivate. *Blaschko*,²³ *Keilin*,¹⁸³ ferner *Sevag*³³⁷ und ihre Mitarbeiter haben Mitte der dreissiger Jahre den hemmenden Einfluss der Hydroxylamine auf die Katalasewirkung festgestellt. Auf diesen Ergebnissen fusst die Annahme von *Mellon* und seinen Mitarbeitern, dass die Zersetzung des H_2O_2 das im Verlaufe der aeroben Bakteriumatmung entsteht, von dem Sulfanilamid bzw. seinem Oxydationsprodukt, dem entsprechenden Hydroxylamin, verhindert werde. Im Gefolge der Antikatalasewirkung komme es im Bakteriumleib zur Peroxydiansammlung, die die Zelle schliesslich töte. *Mellon* und seine Mitarbeiter glaubten, diese Auffassung experimentell bewiesen zu haben, denn sie fanden, dass die mit Sulfanilamid versetzten Bakterienkulturen mehr Peroxyd enthalten als die Kontrollen. Die Peroxydiansammlung war noch ausgeprägter, wenn die Kulturen nicht mit Sulfanilamid, sondern mit p-Hydroxylaminobenzolsulforamid versetzt waren. Ferner wurde die Peroxydiansammlung auch in den Fällen beobachtet, wo die Hydroxylamino-Gruppe nicht am Stickstoffatom des aromatischen Kerns (N^4), sondern am N^1 -Atom der Sulfonamidgruppe ausgebildet war.²⁵⁸ Desgleichen waren auch die Verbindungen vom Typ $R \cdot NH \cdot C_6H_4 \cdot SO_2 \cdot NHOH$ wirksamer (R bedeutet irgend ein Acyl-Radikal, z. B. Caproyl, Valeryl oder Heptoyl). Auch das p-Methylbenzolsulfohydroxamid ($CH_3 \cdot C_6H_4 \cdot SO_2 \cdot NHOH$) führte zu Peroxydanhäufung. Die Verfasser behaupten, dass alle diese Verbindungen selbst im Falle sehr grosser Inocula (z. B. 0,1 ccm Pneumokokken-Fleischbrühenkultur) bakterizid wirken und diese Wirkung ausschliesslich durch die Peroxydanhäufung bedingt sei. Ausser ihnen hat auch *Lajos*²⁰⁹ eine mässigere Peroxydanhäufung beobachtet, während *Fuller*¹¹⁶ in den Sulfanilamid enthaltenden Kulturen nur so viel H_2O_2 fand wie in den Kontrollen.

Mit dem oben Angeführten stehen auch die Beobachtungen von *Burton*³⁸ und seinen Mitarbeitern in Einklang. Sie prüften die In-vitro-Wirkung des p-Hydroxylaminobenzolsulfonamids gegen zahlreiche Krankheitserreger in Parallelversuchen mit Sulfanilamid und Sulfapyridin. Auffallenderweise konnten sie aber die bakterio-statische Wirkung des Sulfanilamid weder in Fleischbrühe noch im Agarnährboden, ausgenommen gegen Diphteriebazillen und Pneumokokken, nachweisen. Sogar die Verdünnung 1:500 war nicht imstande, die Entwicklung der verschiedenen Bakterien zu verhindern. Hinsichtlich der Inoculumgrösse teilen die Verfasser nichts mit, darum ist es sehr fraglich, ob die Versuche den im vorigen Kapitel besprochenen Bedingungen entsprachen. Im Gegensatz zur schwachen Wirkung des Sulfanilamid wurde das Wachstum der verschiedenen Bakterienarten vom p-Hydroxylaminobenzolsulfonamid bis zur Verdünnung 1:1.000—1:3.500 gehemmt. Die entsprechende Nitroverbindung war etwas schwächer wirksam.

Nach unserer Ansicht sind die meisten hier angeführten Versuche zum Vergleich der *bakteriostatischen* Wirkung des Sulfanilamids und des p-Hydroxylaminobenzolsulfonamids aus technischen Gründen ungeeignet. Die Technik der Verfasser entsprach in den meisten Fällen nur für die Bestimmung der *bakteriziden* Wirkung. Einige, wie z. B. *Mayer*,²⁰⁸ ferner *Bratton*³⁴ und seine Mitarbeiter, sprechen im Zusammenhang mit der antibiotischen Wirkung des Sul-

fanilamids und des p-Hydroxylaminobenzolsulfonamids ausdrücklich von einer bakteriziden und nicht von einer bakteriostatischen Wirkung. Zwar behaupten *Burton*³⁸ und seine Mitarbeiter, die bakteriostatische Wirkung dieser Präparate gemessen zu haben, sind wir auf Grund ihrer Versuchstechnik der Ansicht, dass auch sie die bakteriziden Eigenschaften der Verbindungen prüften. Hieraus glauben wir darauf schliessen zu dürfen, dass *das Sulfanilamid hinsichtlich Bakterizidie dem p-Hydroxylaminobenzolsulfonamid nachsteht, wobei die angeführten Versuche in bezug auf die bakteriostatischen Eigenschaften der zwei Verbindungen keinen entsprechenden Aufschluss geben.*

Die Auffassung von *Mayer, Mellon*, seiner Mitarbeiter und ihren Anhängern wurde mit heftigen Widersprüchen aufgenommen. In Erwiderung wurden zahlreiche Versuche und Argumente angeführt, um diese Theorie zu widerlegen. Die Argumente lassen sich in nachstehenden Punkten zusammenfassen: 1. Keine einzige Tatsache beweist, dass aus dem Sulfanilamid im Organismus p-Hydroxylaminobenzolsulfonamid entstehe. *Thorpe, Tecwyn* und *Shellswell*³⁹ konnten das Vorhandensein dieses Stoffes im Urin trotz systematischer Untersuchungen nicht nachweisen. Sie sprechen der *Rosenthal-Bauerschen* Reaktion³⁵ jedwede Spezifität ab, weshalb ihre positiv ausgefallenen Versuche jeder Beweiskraft entbehren. Nach *Thorpe* und seinen Mitarbeitern sei das Oxydationsprodukt des Sulfanilamid nicht das Hydroxylamin, sondern verschiedene Hydroxybenzolderivate. 2. Im Organismus sind die Bedingungen der Entstehung des Hydroxylamins überhaupt nicht gegeben, sogar die eingeführte Verbindung wird ausserordentlich rasch abgebaut. *Bratton, White* und *Marshall*³⁴ beobachteten, dass 40% des dem Blute hinzugegeben Hydroxylamins schon nach 5 Minuten verschwanden. 3. Auch die Antikatalase-Theorie von *Mellon* und seinen Mitarbeitern ist nicht haltbar, *da das Sulfanilamid auch auf solche Bakterien wirkt, die Peroxyd nicht erzeugen und keine Katalase besitzen*, ferner, weil die Sulfanilamidwirkung unter anaeroben Verhältnissen unverändert zur Geltung kommt (*Bliss* und *Long*,²⁷ *Broh-Kahn*,³⁶ *Winkler* und *Julius*,³⁸ obwohl hier die Voraussetzungen der Peroxyd-erzeugung nicht gegeben sind. Besässe das Sulfanilamid nur eine Antikatalase-Wirkung, so wäre es gegen die hämolytischen Streptokokken, die Shiga- und Flexnerbazillen unwirksam, da in diesen Bakterien keine Katalase enthalten ist.³⁶ Nun wirkt aber das Sulfanilamid auf diese Bakterien ebenso energisch oder noch energischer als auf die katalasehaltigen Coli-, Schmitz-, Sonnebazillen usw. Wäre vom Gesichtspunkte der Sulfanilamidwirkung die Antikatalase-Eigenschaft wesentlich, so würde jedes Hydroxylaminderivat chemotherapeutisch wirksam sein; hierfür aber wurden bisher keine Beweise erbracht. 4. Das p-Hydroxylaminobenzolsulfonamid müsste im Organismus schon deshalb unwirksam sein, weil seine Antikatalase-Wirkung von den Eiweisskörpern in reversibler Weise behoben wird.³⁸

Nach diesen besteht heute kein Zweifel darüber, dass die chemotherapeutische Wirkung vom Sulfanilamid und nicht von einem seiner Umwandlungsprodukte ausgeübt wird. Gegen die Antikatalase-Theorie von *Mellon* und seinen Mitarbeitern spricht ausser den

angeführten Argumenten auch der Umstand, dass die Wirkung des p-Hydroxylaminobenzolsulfonamids von der p-Aminobenzoesäure nicht aufgehoben wird (*Green* und *Bielschowsky*¹²⁹), obwohl diese Verbindung die Sulfanilamidwirkung in vivo und in vitro gleichweise aufhebt.

3 Die mit den Sulfanilamidderivaten zusammenhängenden Interferenzerscheinungen.

Im Laufe der Studien über die Wirkungsweise der trypanoziden Chemotherapeutica hat sich die Wichtigkeit der sog. Arznei-Interferenzerscheinungen gezeigt. Die Erscheinung wurde zuerst von *Browning* und *Gulbransen*³⁷ 1922 beschrieben, nachdem sie beobachtet hatten, dass die heilende Wirkung des Trypaflavin auf die Nagana-Infektion von Parafuchsin neutralisiert wird. Später wurden zahlreiche ähnliche Beobachtungen gemacht in bezug auf die Wirkung der Arsenverbindungen und der Anilinderivate. Mit diesen Beobachtungen, von denen die wichtigsten von *Voegtlin*³⁶⁷ und seinen Mitarbeitern, ferner von *Jancsó* und *Jancsó*^{174, 175} gemacht wurden, wollen wir uns hier nicht ausführlich befassen, wir möchten nur darauf hinweisen, dass die Bedeutung der Arznei-Interferenz auch in der Erforschung der Wirkung der Bakterien-Chemotherapeutica bewiesen wurde. Während die mit den trypanoziden Mitteln zusammenhängenden Interferenzerscheinungen vorwiegend in Titerversuchen untersucht wurden, hat man die Interferenz der Sulfanilamid-derivate fast ausschliesslich im Reagenzglas beobachtet und ausführlich erforscht. Wie gezeigt werden soll, brachte die Analyse dieser Erscheinung eine entscheidende Wendung in der Erkenntnis vom Wirkungsmechanismus der Sulfanilamid-derivate, weshalb die Prüfung der Einzelheiten dieses Problems unerlässlich erscheint.

Bei der Besprechung der bakteriostatischen Sulfanilamidwirkung wurde bereits betont, dass diese Eigenschaft von den Versuchsbedingungen hochgradig beeinflusst wird. Auf die hemmende Wirkung der aus dem tierischen Organismus hergestellten Stoffe (Pepton, Organextrakte) wurde besonders hingewiesen. Die Erscheinung wurde Antisulfanilamid- oder Sulfanilamid-Antagonistenwirkung genannt und vom Gesichtspunkte des Wirkungsmechanismus wurde ihr schon längst eine grosse Bedeutung zugeschrieben. Heute scheint die Bezeichnung Arznei-Interferenz um so mehr begründet zu sein, als die Erscheinung bekanntlich auch im lebenden Organismus vorkommt.

Lockwood^{227, 228} hat die im Jahre 1938 zum ersten Male beobachtete Antisulfanilamidwirkung des Peptons zur Erklärung des Wirkungsmechanismus dieser Verbindung schon damals herangezogen. Nach seiner damaligen Ansicht komme die bakteriostatische Wirkung des Sulfanilamid in der Weise zustande, dass das Präparat die die komplexen Eiweisskörper abbauenden Fermente vergifte; bei Vorhandensein des Peptons können die Bakterien darum gedeihen, weil die fehlenden Eiweisabbauprodukte aus dem Pepton, also auf exogenem Wege, ersetzt werden. Nun üben aber die Sulfanilamide auf die proteolytischen Fermente keinerlei Wirkung aus (*Fuller* und *Cole-*

brook,¹¹⁷ *Abderhalden*¹⁾ weshalb die 1939 publizierte Erklärung von *McIntosh* und *Whitby*²¹⁶ anscheinend richtiger ist als die Auffassung *Lockwoods*. Letztere haben die Sulfanilamidwirkung wie folgt charakterisiert: „Sulphanilamide drugs are not simple germicides. They probably act by neutralisation of some metabolic function of enzymatic action.“

*Stamp*³⁴⁸ teilte 1939 mit, dass er die Interferenz auch mit Bakterienauszügen zustande bringen konnte. Aus einer gewaschenen Suspension von Streptokokken stellte er mit Ammoniumhydroxyd einen Extrakt her, der die bakteriostatische Wirkung des Sulfanilamid stark hemmte. Im Laufe der Konzentrierung und teilweisen Reinigung dieser Extrakte machte er die Feststellung, dass der Hemmstoff ein kleines Molekül besitze. Der konzentrierte Stoff enthält Stickstoff und spricht auf die Ninhydrinprobe stark an. Nach *Stamp* sei dieser Wirkstoff ein wesentlicher Bestandteil des Enzymsystems, das vom Sulfanilamid gehemmt wird. Er glaubt mit Rücksicht auf seine Thermostabilität, dass es sich um ein Coenzym handelt.

Der Beobachtung von *Stamp* kommt deshalb eine Bedeutung zu, weil die Spezifität der Peptoninterferenz von *Fuller* und *Colebrook*¹¹⁷ bezweifelt wurde. Nach ihnen werde die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide vom Pepton darum herabgesetzt, weil diese Wirkung in einem nährstoffreichen Milieu nicht zur Geltung kommen könne. Die Extrakte von *Stamp* waren aber in solch kleinen Mengen wirksam, dass die Spezifität der Wirkung fast über jedem Zweifel stand. Andere Forscher wurden vor allem durch die Beobachtungen *Stamps* veranlasst, den Mechanismus der Sulfanilamidwirkung auf diesem Wege zu erforschen. Für ähnliche Untersuchungen hält *Green*¹²⁷ den *Bac. abortus Bang* für das zweckmässigste „Testobject“, da dieser Krankheitserreger sich langsamer als der *Streptococcus* entwickelt, wodurch sein Gedeihen leichter analysiert werden kann. Auch *Green* konnte aus den verschiedenen Bakterien einen mit der Sulfanilamidwirkung interferierenden Stoff herstellen, den er „P-factor“ („pollulation“ oder „proliferation“ factor) nannte. Obwohl seine Extrakte auch die Entwicklung der Sulfanilamide nicht enthaltenden Kulturen förderten, legte er der Interferenzerscheinung nicht diese, sondern ihre antisulfanilamiden Eigenschaften zugrunde. Vom P-Faktor hat er festgestellt, dass er nicht artspezifisch ist, da er aus den verschiedensten Bakterien hergestellt bzw. isoliert werden konnte.

Das Studium der Interferenz erbrachte Anfang 1940 eine vom Gesichtspunkte des Wirkungsmechanismus der Sulfanilamide aus entscheidende Wirkung. Da die Bierhefe eine ansehnliche Menge von Antisulfanilamid-Stoff enthält, versuchte *Woods*,³⁹³ diesen Stoff aus dem Ammoniumhydroxydextrakt der Bierhefe zu isolieren. Der Hemmstoff geht aus dem wässrigen Auszug bei pH 4,5 in Aether über und lässt sich auf diese Weise konzentrieren und reinigen. Mit dem konzentrierten gereinigten Prinzip stellte er verschiedene Reaktionen an. Durch Oxydation mit Salpetersäure lässt sich seine Wirkung aufheben, durch Acetylierung und Esterifizierung abschwächen. *Auf Grund dieser und anderer Eigenschaften nahm er an, dass der Sulfanilamidantagonist mit einer Aminobenzoesäure oder ihrem Derivat identisch sein könnte. Die Annahme erhielt durch seine weiteren*

Versuche eine glänzende Bestätigung, indem er nachweisen konnte, dass die p-Aminobenzoensäure die bakteriostatische Wirkung des Sulfanilamid sehr stark hemmt; von 1 mol der Säure wird die Wirkung von ungefähr 10.000 mol Sulfanilamid aufgehoben! Die Beobachtungen von Woods wurden kurz darauf im Falle der verschiedensten Mikroorganismen von zahlreichen Verfassern (MacLeod,²⁵² Weis und Jones,³⁷³ Landy und Wyano,²¹² Strauss, Dingle und Finland,³⁵⁰ Müller,²⁷⁷ Levaditi,²¹⁴ Ivánovics,¹⁵⁹ Kimmig,¹⁸⁵,¹⁸⁶ Hirsch,¹⁴⁸ Spink und Jermsta³⁴⁵) ohne Ausnahme bestätigt. Sie haben festgestellt, dass die p-Aminobenzoensäure die bakteriostatische Wirkung der verschiedensten Sulfanilamidderivate und der Sulfanilsäure (Möller und Schwarz,²⁵¹ Ivánovics,¹⁵⁹ Hirsch,¹⁴⁸ Jensen und Schmith¹⁷⁸) gleicherweise aufhebt. Die Verbindung wirkt aber auf die verschiedenen Antiseptica nicht antagonistisch und die bakteriostatische bzw. antiseptische Wirkung der Benzoensäure, der Salicylate, Phenolderivate, Chinone, Nitrobenzole oder die des Salols bleibt bei Vorhandensein der p-Aminobenzoensäure unverändert. (Ivánovics¹⁵⁹,¹⁶⁰) Die gegen das Sulfanilamid gerichtete antagonistische Wirkung der p-Aminobenzoensäure ist für das Molekül kennzeichnend; Woods³⁹³ hat die o-Aminobenzoensäure für unwirksam, die m-Verbindung für kaum wirksam gefunden. Andere (Landy und Wyano,²¹² Ivánovics,¹⁵⁹ Hirsch,¹⁴⁸ Kimmig¹⁸⁵,¹⁸⁶) fanden beide Isomere für gleich unwirksam. Die Spezifität der Wirkung der p-Aminobenzoensäure geht aus Tabelle 16. hervor, die auf Grund der Literaturdaten zusammengestellt wurde. Um die Wirkung der einzelnen Stoffe vergleichen zu können, wurde die sulfanilamidantagonistische Wirkung der p-Aminobenzoensäure mit 10.000 bezeichnet und die Wirkung der anderen Stoffe hierauf bezogen.

Als Ergänzung der Tabelle sei erwähnt, dass die verschiedenen Ester der p-Aminobenzoensäurederivate, die eine örtlich anästhesierende Eigenschaft haben, von mehreren Verfassern. (Keltch¹⁸⁴ und seine Mitarbeiter, Kimmig¹⁸⁶) untersucht und mit der p-Aminobenzoensäure gleich wirksam oder etwas schwächer gefunden wurden. Die Ester wirken aber langsamer als die Grundverbindung (Woods), wahrscheinlich darum, weil sie von den Bakterien vorerst verseift werden müssen. Wahrscheinlich ist ihr verschiedener Spaltungsgrad verantwortlich dafür, dass ihre Wirksamkeit verschiedentlich angegeben wird.

Demnach besitzt die p-Aminobenzoensäure eine sehr starke und weitgehend spezifische Antisulfanilamidwirkung. Diese Wirkung ist an die in para-Stellung befindlichen Amino- bzw. Carboxylgruppe gebunden. Woods führt die von ihm beobachtete schwache Antisulfanilamidwirkung der p-Nitrobenzoensäure darauf zurück, dass die Verbindung zum Teil reduziert wird. Jede Substitution in die Amino- oder Carboxylgruppe des Stoffes hat eine beträchtliche Wirksamkeitsabnahme zur Folge. Darum wirken z. B. das p-Amino-benzoylaminopyridin, die p-Aminobenzoyl-glutaminsäure, p-Aminobenzoyl-aminoessigsäure, das p-Aminobenzamid usw. schwächer als die Grundverbindung. In diesen Derivaten befindet sich die Carboxylgruppe in einer Peptidbindung und die Wirkung kann wahrscheinlich erst nach der Spaltung dieser Bindung entfaltet werden. Hier kann der Grund auch dafür liegen, dass diese Derivate auf die ver-

Tabelle 16.

Antisulfanilamidwirkung der p-Aminobenzoesäure und der ihr verwandten Verbindungen auf Grund der Daten von verschiedenen Verfassern.

Die Wirkung der p-Aminobenzoesäure ist zum Zweck der Vergleichung mit rund 10.000 angenommen.

Die Verbindung und ihre chemische Struktur	Antisulfanilamidwirkung	Mikroorganismus
p-Aminobenzoesäure, $H_2N.C_6H_4.COOH$	10.000	
p-Aminobenzoesäure-aethylester, $H_2N.C_6H_4.CO_2.C_2H_5$	10.000	Strept. ³⁹³
	1.200	Str. b. pl. ²⁰⁷
p-Aminobenzoesäure-methylester, $H_2N.C_6H_4.CO_2.CH_3$	30	Str. b. pl. ²⁰⁷
Novocain, $H_2N.C_6H_4.COO.CH_2.CH_2.N(C_2H_5)_2$	10.000	Cl. acet. ³¹⁹
Tutocain*	170	Str. b. pl. ²⁰⁷
Pantocain*	5	Str. b. pl. ²⁰⁷
p-Aminobenzamid, $H_2N.C_6H_4.CO.NH_2$	30	Cl. acet. ³¹⁹
	100	Str. b. pl. ²⁰⁷
p-Aminobenzoyl-glycin, $H_2N.C_6H_4.CO.NH.CH_2.COOH$	160	Str. b. pl. ²⁰⁷
p-Aminobenzoyl- α -alaninaethylester, $H_2N.C_6H_4.CO.NH.CH.(CH_3).CO_2.C_2H_5$	10	Str. b. pl. ²⁰⁷
p-Aminobenzoyl-glutaminsäure, (d und l)**	300	Strept. ¹⁶⁵
N-p-Aminobenzoyl-p-amino- benzoesäure, $H_2N.C_6H_4.CO.NH.C_6H_4.COOH$	2	Str. b. pl. ²⁰⁷
2-(p-Aminobenzoylamino)-pyridin, $H_2N.C_6H_4.CO.NH.C_5NH_5$	1	Strept. ³⁹³
p-Aminophenyllessigsäure, $H_2N.C_6H_4.CH_2.COOH$	0	Cl. acet. ³¹⁹
	0	Strept. ²¹²
p-Aminophenylglycin, $H_2N.C_6H_4.CHNH_2.COOH$	160	Str. b. pl. ²⁰⁷
	0	Strept. ²¹²
N-Acetyl-p-aminobenzoesäure, $H_3C.CO.NH.C_6H_4.COOH$	160	Str. b. pl. ²⁰⁷
p-Hydroxylaminobenzoesäure (?), $HONH.C_6H_4.COOH$	1	Strept. ³⁹³
p-Nitrobenzoesäure, $O_2N.C_6H_4.COOH$	1	Strept. ³⁹³
	0	Staph. ¹⁵⁹
	3	Cl. acet. ³¹⁹
p-Hydroxybenzoesäure, $HO.C_6H_4.COOH$	0	Strept. ³⁹³
	0	Str. b. pl. ²⁰⁷
	0	Staph. ¹⁶⁰
p-Toluylsäure, $H_3C.C_6H_4.COOH$	0	Strept. ³⁹³
p-Aminophenyl-stibinsäure, $H_2N.C_6H_4.SbO_3H_2$	0,2	Str. b. pl. ²⁰⁷
p-Aminophenyl-arzinsäure, $H_2N.C_6H_4.AsO_3H_2$	0	Str. b. pl. ²⁰⁷

Erklärung: Str. b. pl. = Streptobacterium plantarum; Strept. = Streptococcus haemolyticus; Cl. acet. = Clostridium acetobutylicum; Staph. = Staphylococcus aureus.

(?) = die Reinheit der Verbindung war fraglich

* = Diese Verbindungen sind die Ester der p-Aminobenzoesäure. Ihre Struktur war wegen Raummangel nicht abzubilden

** = siehe die Struktur auf S. 81.

schiedenen Bakterien verschieden wirken. Nach dem Erwähnten ist die aromatisch gebundene Carboxylgruppe eine Voraussetzung für die Antisulfanilamidwirkung; es hat aber den Anschein, dass diese Regel nicht ausnahmslos gültig ist. So wurde z. B. das p-Aminophenylglycin von *Kuhn*²⁰⁷ und seinen Mitarbeitern für schwach wirksam befunden. Andere Verfasser dagegen (*Landy und Wyano*²¹²) haben unter anderen Bedingungen die Unwirksamkeit dieser Verbindung beobachtet. Führt man in die Aminogruppe der p-Aminobenzoesäure einen Substituenten ein, so wird die Wirkung wieder schwächer. So ist z. B. die Acetylaminobenzoesäure nur schwach wirksam.

Die Antisulfanilamidwirkung ist für die p-Aminobenzoesäure sehr charakteristisch; ihre Derivate und die mit ihr verwandten Verbindungen sind kaum oder überhaupt nicht wirksam. Es ist noch nicht ganz klar, ob die Substitution in die Amino- oder Carboxylgruppe die Wirkung vollkommen aufhebt. Zweifelsohne nimmt die Wirkung nach der Substitution ab, es fragt sich nur, ob diese Wirkungsabnahme durch die ursprünglichen Eigenschaften der neuen Verbindung oder dadurch bedingt ist, dass die Bakterientätigkeit aus den Derivaten p-Aminobenzoesäure abspaltet.

Mehrere Verfasser prüften die Frage, ob es auch andere Verbindungen gibt, die antagonistisch dem Sulfanilamid wirken. In dieser Beziehung wurden die akzessorischen Stoffe (Vitamine) für unwirksam befunden. *Green*¹²⁷ beobachtete in seinen mit *Bac. abortus* Bang durchgeführten Versuchen die Unwirksamkeit des Aneurins, der Nikotinsäure und ihres Amids, ferner erwiesen sich auch das β -Alanin, die Pimelinsäure, Indoleessigsäure, Uracil, Glutamin, Inosit und das Biotin als unwirksam. Im Falle von *Streptococcus*, *Staphylococcus* und *Colibazillen* wiesen Aneurin, Pantothensäure, Adermin, Cocarboxylase, Adenylsäure (*Ivánovics*^{160, 167}) keine Antisulfanilamidwirkung auf. *Wood* und *Austrian*³⁹² haben bei denselben Bakterien die Unwirksamkeit des Nikotinsäureamids, Thiamin und der Cocarboxylase bewiesen. *Harris* und *Kohn*¹⁴¹ untersuchten vom Gesichtspunkte der Antisulfanilamidwirkung zahlreiche Purin- und Pyrimidinbasen und zahlreiche auch von anderen geprüften, biologisch wichtigen Stoffe; alle waren in den Versuchen inaktiv.

Die Behauptung von *West* und *Coburn*,³⁷⁵ dass der Cozymase eine Antisulfanilamidwirkung zukomme, steht in scharfem Widerspruch mit den erwähnten negativen Ergebnissen. Andere Verfasser (*Ivánovics*,¹⁵⁹ *Wood* und *Austrian*,³⁹² *Harris* und *Kohn*¹⁴¹) konnten seine Ergebnisse nicht bestätigen. *Wood* und seine Mitarbeiter haben in synthetischem Nährboden die fördernde Wirkung der Cozymase auf das *Staphylococcus*wachstum beobachtet; sie glauben, dass *West* und *Coburn* die Antisulfanilamidwirkung der Cozymase aus dieser Beobachtung ableiten.

Interessanterweise fand *Johnson*,¹⁸⁰ dass das Urethan (Aethylcarbammat) eine Antisulfanilamidwirkung besitzt. *McIlwain*²⁴³ beobachtete ebenfalls, dass dieser Stoff die bakteriostatische Wirkung des Sulfanilamid herabsetzt, die Hemmung war aber so geringfügig, dass sie keineswegs als spezifisch angesehen werden könne. In seinen Versuchen konnte 1 mol Urethan nur die Wirkung von 0,01—1 mol Sulfanilamid neutralisieren. Wenn man berücksichtigt, dass 1 mol p-Aminobenzoesäure die Wirkung von Tausenden der Sulfanilamid-

moleküle aufhebt, so ist diese Wirkung wahrlich als unbedeutend zu betrachten.

Da verschiedene Organextrakte, ferner die Absonderungen von gesunden und kranken Menschen eine Antisulfanilamidwirkung besitzen, dürfte diese Eigenschaft mit ihrem Gehalt an p-Aminobenzoessäure zusammenhängen. Die quantitative Bestimmung der p-Aminobenzoessäure in diesen Stoffen war schon früher und ist noch immer eine wichtige Aufgabe. Prinzipiell kann die Bestimmung ähnliche wie andere biologische Verfahren erfolgen, indem man aus der Wirkung auf die Menge des wirksamen Stoffes schliesst. Wichtig ist dabei, die Versuche in einem Medium (Nährboden) vorzunehmen, das mit diesem Stoff nicht verunreinigt ist. Natürliche Nährböden (Fleischbrühe, Peptonwasser) kommen aus diesem Grunde nicht in Frage, nur die sog. synthetischen Nährböden können sich in diesen Versuchen bewähren. *Es schien besonders der Colibacillus zu diesen Versuchen sich zu eignen, da er auch in sehr einfach zusammengesetzten Nährböden, z. B. in einer nur Glucose und Salze enthaltenden Lösung, gedeiht.* Hiermit dürfte es zusammenhängen, dass der erste Erforscher dieses Problems, MacLeod,²⁵² seine Versuche mit diesem Bakterium anstellte. Er versetzte einen aus Glucose und Salzmischung hergestellten Nährboden mit so viel Sulfanilamid dass die eingepfimpften Colibazillen sich nicht vermehren konnten, dann fügte er dem Röhreninhalt eine entsprechende Menge des Antisulfanilamidstoffes hinzu und prüfte die Röhren auf Bakterienwachstum nach 24 Stunden. Nach der Prüfung einer Anzahl von Stoffen hat er festgestellt, dass auch das verdaute Casein eine Antisulfanilamidwirkung besitzt, die nicht durch Verunreinigung mit p-Aminobenzoessäure bedingt sein dürfte.

Vor der Besprechung dieser Beobachtung sei noch erwähnt, dass die bakterio-statische Wirkung der Sulfanilamide gegen die Colibazillen in dem mit hydrolysiertem Casein hergestellten Nährboden weniger zur Geltung kommt als in der Glucose-Salzmischung. Aus Tabelle 13. (s. Seite 57) ersieht man, dass das Sulfamethylthiazol in der Glucose-Salzmischung (synthetischer Nährboden) am stärksten, im Caseinnährboden weniger stark und in der Fleischbrühe am schwächsten wirksam ist. Die Erscheinung wäre am einfachsten dadurch zu erklären, dass die bakterio-statische Wirkung der Sulfanilamide in dem nährstoffreichen Caseinnährboden weniger zur Geltung kommen könne als in der Glucose-Salzmischung. Wäre diese Erklärung richtig, so würde noch immer die Frage offen bleiben, ob diese Wirkung eine spezifische Eigenschaft eines im Caseinhydrolysat befindlichen Stoffes ist oder von jedem Energiespender des Nährbodens herrühren kann. Auf diese Frage antworten wir im folgenden zum Teil auf Grund unserer eigenen Erfahrungen, zum Teil auf Grund der Literaturdaten.

Aehnlich wie in unserem vorigen Versuch, wurde auch die bakterio-statische Wirksamkeit des Sulfanilamid in verschiedenen Nährböden geprüft. In der Glucose-Salzmischung beträgt der bakterio-statische Titer dieses Präparates mol/8000, in Caseinnährlösung mol/2000, während die in Fleischbrühe geimpften Colibazillen selbst bei der Sulfanilamidverdünnung mol/1000 sich vermehren konnten. Im weiteren wurden 5 ccm des nach Sahyun³²⁰ und seinen Mitarbei-

tern hergestellten synthetischen Nährbodens mit Sulfanilamid 1:10.000 versetzt, dann wurden die in Tabelle 17. verzeichnete Stoffe in je 2 ccm Volumen in die Röhren eingetragen, schliesslich die Röhren mit je 3000 Colibazillen beimpft. Die Resultate waren nach 24 Stunden Züchtung folgende:

Tabelle 17.

Wachstum der Colibazillen in der Anwesenheit von 1:10.000 Sulfanilamid unter der Einwirkung von verschiedenen Substanzen.

(Ein am 15. 2. 1941 ausgeführter, nicht mitgeteilter Versuch)

Bezeichnung der Röhre	hinzugefügter Stoff	Wachstum
1.	2 ccm Kochsalzlösung	—
2.	2 mg durch Filtrierung sterilisiertes Casein	—
3.	2 mg mit Schwefelsäure hydrolysiertes Casein	+++
4.	10 mg mit Salzsäure hydrolysiertes Gelatin	+++
5.	1 mg " " " "	+
6.	2 ccm dialysiertes Pferdeserum	—
7.	0,2 ccm mit Schwefelsäure hydrolysiertes Pferdeserum	+++
8.	2 mg Tyrosin, Tryptophan, Leuzin, Cystin, Glycocoll oder Glutaminsäure	—
9.	10 mg mit HNO ₂ oxydiertes Casein-hydrolysat	—

Der native Eiweissstoffe (Casein *Hammerstein* oder dialysiertes Pferdeserum) hatte keine Interferenz zur Folge, nach seiner Säurehydrolyse machte sich aber eine bedeutende Antisulfanilamidwirkung bemerkbar. Anscheinend rufen nicht alle Aminosäuren des Hydrolysates eine Interferenz hervor, da mehrere hierauf geprüften Aminosäuren für unwirksam befunden wurden. Die Oxydation mit Salpetersäure hebt die Antisulfanilamidwirkung der Hydrolysate interessanterweise auf. Diese Erscheinung spricht dafür, dass der Wirkung doch eine Aminosäure zugrunde liegt.

Da die in der vorigen Tabelle angeführten Eiweisskörper nicht restlos gereinigt werden können, bleibt die Frage, ob die Wirkung durch eine Verunreinigung bedingt sei, dahingestellt. Darum wurden die Versuche mit einem Eiweisskörper wiederholt, der sich besser als das Casein reinigen lassen dürfte, mit zweimal umkristallisiertem und anhaltend dialysiertem Serumalbumin. Die Ergebnisse befinden sich in Tabelle 18.

Der Versuch lässt die Annahme zu, dass der eine Antisulfanilamidwirkung besitzende Stoff aus dem Eiweisskörper selbst herrührt, und nicht aus einer am Eiweisskörper haftenden Verunreinigung. Der Stoff wird erst nach stattgefundener Säurehydrolyse wirksam, von der Alkalihydrolyse wird er vernichtet.

Die im obigen Versuch besprochene Erscheinung kann nach den Beobachtungen von *Bliss* und *Long*,²⁹ ferner *Harris* und *Kohn*,¹⁴¹ leicht ausgelegt werden. *Bliss* und *Long* haben nachgewiesen (1941),

Tabelle 18.

Wachstum der Colibazillen in der Anwesenheit von 1:10.000 Sulfanilamid unter der Einwirkung von Eieralbumin.

(Ein am 3. 3. 1941, ausgeführter nicht mitgeteilter Versuch)

Bezeichnung der Röhre	hinzugefügter Stoff	Wachstum
1.	2 ccm phys. NaCl-Lösung	—
2.	400 ccm Eieralbumin	—
3.	40 mg mit Schwefelsäure hydrolysiertes Eieralbumin	+++
4.	4 mg „ „ „ „	+++
5.	40 mg mit Natronlauge hydrolysiertes Eieralbumin	—

dass in synthetischem Nährboden die Wirkung von 8,6—12,7 mg % Sulfanilamid auf die Colibazillen von dem *Methionin* in spezifischer Weise behoben wird. Die Wirkung wurde innerhalb der Grenzkonzentrationen 0,015—1000 mg % beobachtet, die niedrigeren und höheren Konzentrationen waren gleichermaßen wirkungslos. Homomethionin, Cystein, S-Methylcystein, Homocystein, Cholin, zahlreiche Aminosäuren — ausgenommen das Arginin und Lysin — waren unwirksam. Letztere sollen nach *Long* und *Bliss* eine geringe Antisulfanilamidwirkung haben. *Harris* und *Kohn* brachten noch mehr Beweise für die Antisulfanilamidwirkung des Methionins und wiesen seine Wirksamkeit auf Sulfanilamid, Sulfapyridin und Sulfathiazol nach. *Wurden aber die Sulfanilamide in grossem Überschuss verwendet, so unterblieb die Methionininterferenz, obwohl die p-Aminobenzoensäure auch in diesen Fällen wirksam war.* Die optimale Methioninkonzentration liege bei mol 10^{-5} — 10^{-4} . Die Wirkung komme im Proteoseptonnährboden nicht zustande, dies sei aber selbstverständlich, da der Nährboden selber Methionin enthalte. In Verfolgung des Problems haben *Harris* und *Kohn* festgestellt, dass das Pepton nebst p-Aminobenzoensäure und Methionin auch einen dritten wirksamen Bestandteil enthält, doch konnte über die nähere Natur dieses Stoffes nichts ermittelt werden. Die Methioninwirkung erwies sich als weitgehend spezifisch; das *l*(-)-Methionin ist 10—100-mal wirksamer als sein optischer Isomer. Von verschiedenen zahlreichen schwefelhaltigen und schwefelfreien Aminosäuren war nur das Methionin wirksam. Ferner haben *Harris* und *Kohn* festgestellt, dass das Methionin von der Colisuspension nicht oxydiert, decarboxyliert oder desaminiert wird. Die Verfasser sind deshalb der Ansicht, dass diese Aminosäure nicht als ein einfacher Energiespender, sondern als Katalysator wirke, der besonders die Zellteilung fördere.

Der in Tabelle 19. dargestellte Versuch enthält vergleichende Daten in bezug auf die Antisulfanilamidwirkung des Methionins und der p-Aminobenzoensäure.

Schon bisher sprechen mehrere Beobachtungen dafür, dass es ausser der p-Aminobenzoensäure und dem Methionin auch andere

Tabelle 19.

Antisulfanilamidwirkung von Methionin oder p-Aminobenzoensäure nach Hinzufügung von 5 ccm der Glucose-Ammoniumsalszlösung.

Konzent. des Sulfanilamid	Wachstum		
	Kontrolle	1 mg Methionin	1 mg p-Amino- benzoensäure
mol/500	—	—	+++
mol/1.000	—	—	+++
mol/2.000	—	—	+++
mol/4.000	—	+	+++
mol/8.000	—	+++	+++
mol/16.000	++	+++	+++

Stoffe mit einer Antisulfanilamidwirkung gibt. In Zusammenhang mit den Erfahrungen von *Harris* und *Kohn* wurde schon erwähnt, dass im Pepton ausser den obigen auch das Vorhandensein eines dritten Stoffes mit dieser Wirkung vermutet werden kann. *Tabon*, *Nitti* und *Musset*^{289, 354, 355, 356} haben die Antisulfanilamidwirkung der verschiedenen Peptonsorten mit besonderer Sorgfalt analysiert und festgestellt, dass die Antisulfanilamidwirkung des Peptons nicht allein auf seinen p-Aminobenzoensäuregehalt zurückgeführt werden kann, da durch Cellophan die Antisulfanilamidstoffe des Peptons nur zum Teil dialysieren. Demnach dürfte ein Teil der Wirkung an ein grosses Molekül gebunden sein. Wird das Pepton mit Ketengas acetyliert, so nimmt nicht nur die Zahl der Aminogruppen, sondern auch die Antisulfanilamidwirkung ab. Merkwürdigerweise wird die Antisulfanilamidwirkung des Peptons durch 1:3 verdünnte heisse Salzsäure zum grossen Teil vernichtet. Ferner ist es interessant, dass in den einzelnen Peptonarten die Menge der diazotierbaren Bestandteile und die Antisulfanilamidwirkung sich nicht parallel verhalten. *Tabon* und seine Mitarbeiter machten die Beobachtung, dass in einem synthetischen mit *Proteus vulgaris* geimpften Nährboden 5 mg Pepton oder 1 γ p-Aminobenzoensäure die Wirkung von 0,5 mg Sulfanilamid aufheben, beide zusammen gegeben können aber 6—7 mg enthemmen. Hieraus schliessen sie darauf, dass sich im Pepton ein Synergist der p-Aminobenzoensäure befinde. *Tabon* und seine Mitarbeiter fanden aber nicht nur im Pepton, sondern auch in der Hefe einen Stoff mit Antisulfanilamidwirkung, der mit der p-Aminobenzoensäure nicht identisch sei. Bedauerlicherweise war die oben besprochene Wirkung des Methionins *Tabon* und seinen Mitarbeitern unbekannt, es bleibt also dahingestellt, ob ihre Beobachtungen etwa nicht mit dieser Aminosäure zusammenhängen. Auch von dem Charakter der sulfanilamidantagonistisch wirksamen Stoffe, die in dem gereinigten Hefeextrakt von *Loomis*, *Hubbard* und *Neter*²³⁶ neben der p-Aminobenzoensäure gefunden wurden, ist recht wenig bekannt. Dasselbe gilt auch von den Beobachtungen von *Green* und *Biel-schowsky*¹²⁸ mit den Auszügen des *Bac. paramelitensis*. Alle diese

Untersuchungen weisen eindeutig darauf hin, dass die Extrakte tierischer und bakterieller Herkunft ausser dem Methicnin und der p-Aminobenzoesäure auch andere Antisulfanilamide enthalten. Diesen scheint aber vom Gesichtspunkte der Sulfanilamidwirkung aus nur eine zweitrangige Bedeutung zuzukommen.

4. Die physiologische Rolle der p-Aminobenzoesäure.

In Kenntnis der p-Aminobenzoesäure-Interferenz wurde die bakteriostatische Wirkung des Sulfanilamid von *Fildes*⁹⁰ im Jahre 1940 folgenderweise ausgelegt: „p-aminobenzoic acid is an essential metabolite for bacteria, although for technical reason it has not yet been proved to be a growth factor in the absence of a bacterium which can not synthetize it. This essential metabolite is normally associated with an enzyme, and sulphanilamide being structurally similar to it, is capable if in sufficient concentration of displacing p-aminobenzoic acid from its enzyme and stopping its essential line of metabolism.“ Die Hypothese von *Fildes* wurde kurz darauf erhärtet, da Mikroorganismen gefunden wurden, die nur in p-aminobenzoesäurehaltigen Nährböden gedeihen konnten. Demnach verhielt sich der Stoff gegenüber den Bakterien wie ein Vitamin.

Wie erwähnt, war *Woods* nicht imstande, aus dem Hefeextrakt p-Aminobenzoesäure zu isolieren und er vermutete ihr Vorhandensein nur aus ihrer Wirkung. Der endgültige Beweis konnte nur durch die Isolierung erbracht werden. Dies gelang noch 1940 *Rubbo* und *Gillispie*,³¹⁸ die aus der Hefe das Benzoylderivat der p-Aminobenzoesäure herstellten. *Blanchard*²² konnte die Säure aus der Hefe in freiem Zustand isolieren. Er machte die Beobachtung, dass die Verbindung in der Hefe in freier Form und auch in irgend einer gebundenen Form — wahrscheinlich in Peptidbindung — vorkommt.

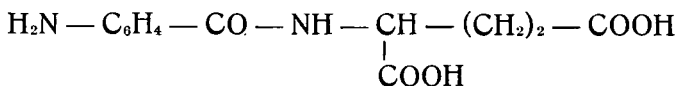
Kuhn und seine Mitarbeiter isolierten diese aromatische Aminosäure auf einem anderen Wege, unabhängig von den erwähnten Untersuchungen. Bekanntlich ist die Milch der Kühe, die mit dem sog. „Silofutter“ gefüttert werden, für die Herstellung von Käsesorten harter Konsistenz ungeeignet. Diese seltsame Erscheinung wurde mit einem akzessorischen Stoff in Zusammenhang gebracht und angenommen, dass sich der *Lactobazillus* bei seinem Nichtvorhandensein nicht vermehren könne. *Kuhn*, *Müller* und *Schwarz*^{201, 281} versuchten unter Verwendung eines Milchsäurebakteriums, des Streptobakterium *plantarum*, als Testobject, diesen hypothetischen Stoff, das Vitamin H', zu isolieren. Durch Verarbeitung der Hefekonzentrate konnte das Vitamin H' in Form seines Methylesters isoliert werden. Im Laufe der chemischen Untersuchung hat es sich gezeigt, dass das Vitamin mit der p-Aminobenzoesäure identisch ist.

Ausser dem Streptobakterium *plantarum* ist jetzt auch von anderen Bakterien bekannt, dass sie die p-Aminobenzoesäure nicht zu synthetisieren vermögen, weshalb sie nur bei ihrem Vorhandensein gezüchtet werden können. *Rubbo* und *Gillispie*³¹⁹ haben festgestellt, dass das *Clostrydium acetobutylicum*, das in der Industrie für die Azeton- und Butylalkoholgärung verwendet wird, die p-Aminobenzoesäure gleichfalls benötigt. Der p-Aminobenzoesäurebedarf dieser Bakterien ist ziemlich gering: für das Streptobakterium *planta-*

rum $1,6 \times 10^{-10}$ g/ccm, für das Cl. acetobutylicum $1,5 \times 10^{-10}$ mcl reichen schon aus. Ausser diesen können der Lactobacillus arabinosus (Isbell¹⁵⁵), eine Art der Neospora mutants (Tatum und Beadle³⁵⁷), das Acetobakt. suboxydans (Lampen,²¹⁰ Landy und Dickens²¹¹ und ihre Mitarbeiter), der Lactobacillus casein und einzelne Stämme der Diphtheria gravis (Chattaway⁵⁴ und seine Mitarbeiter) die p-Aminobenzoensäure nicht entbehren.

Es dürfte sich erübrigen, auf die sonstigen biologischen Eigenschaften der p-Aminobenzoensäure ausführlich einzugehen. Dieser Stoff, der anscheinend auch von höher geordneten Lebewesen beansprucht wird, wurde von Ansbacher² in den B₂-Komplex eingereiht. Seine Rolle ist vorläufig unbekannt, er scheint auch an der Melaninbildung beteiligt zu sein (Martin, Wisansky und Ansbacher²⁶⁴). Nach Lipmann²²¹ werde die Oxydation der p-Aminobenzoensäure durch H₂O₂ von der Peroxydase katalysiert. Die Oxydation liefert ein unbekanntes Pigment. Die Bildung dieses Pigmentes wird vom Sulfanilamid verhindert. Als Ergänzung sollen noch die Beobachtungen von Bauer und Rüt¹⁰ erwähnt werden. Sie haben gefunden, dass die Spontanoxydation des p-Hydrochinons, ferner die durch die Kartoffeltyrosinase bedingte Oxydation des Tyrosins von der p-Aminobenzoensäure, der Sulfanilsäure und den Sulfanilamiden gleicherweise gehemmt werden. Diese Beobachtungen sind aber vorläufig für die chemotherapeutische Wirkung des Sulfanilamid belanglos.

Wie erwähnt ist die p-Aminobenzoensäure nach Blanchard in der Hefezelle zum Teil in gebundenem Zustand vorhanden. Auch andere Beobachtungen sprechen dafür, dass dieser Stoff in den Bakterien und dem Organismus, wenigstens zum Teil, gebunden ist. Aus diesem Grunde erhebt sich die Frage, ob die gebundene p-Aminobenzoensäure nicht wirksamer ist als die freie. Auhagen⁵ hat gefunden, dass die p-Aminobenzoyl-l(+)-glutaminsäure



als Wuchsstoff 8—10-mal wirksamer ist als die p-Aminobenzoensäure. Diese Wirkung ist für das genannte Peptid kennzeichnend; sein optisches Antipod, das N-p-Aminobenzoylglycin, -glycylglycin, -leucin, sind urwirksam. *Anscheinend ist die p-Aminobenzoyl-l(+)-glutaminsäure der p-Aminobenzoensäure nur als Wuchsstoff überlegen. Ihre Antisulfanilamidwirkung ist unwesentlich (Ivánovics¹⁶⁵), z. B. im Falle von Streptokokken 100-mal schwächer als die der p-Aminobenzoensäure.*

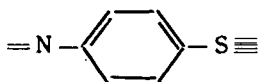
Unter den mit der p-Aminobenzoensäure verwandten Verbindungen zeigt die p-Aminophenylelessigsäure (H₂N.C₆H₄.CH₂.COOH) ein ganz besonderes Verhalten. Als Wuchsstoff wirkt sie auf das Cl. acetobutylicum nach Rubbo und Gillispie³¹⁹ ungefähr 10-mal so stark wie die p-Aminobenzoensäure, dagegen besitzt sie keine Antisulfanilamidwirkung. Diese Erscheinung zu erklären ist umso schwerer, als sie, wie im folgenden noch gezeigt wird, mit den gegenwertigen Kenntnissen überhaupt nicht in Einklang gebracht werden kann. Die Ursache dieses eigenartigen Verhaltens lässt sich vorläufig nicht ermitteln. Es hat den Anschein, dass sich die Verbindung mit anderen

Bakterien anders verhält. *Landy* und *Dickens*²¹¹ haben die p-Aminophenyllessigsäure als Wuchsstoff für das *Acetobakt. suboxydans* nur wenig wirksam gefunden.

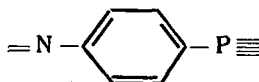
5 Nähere Verhältnisse des zwischen Sulfanilamid und p-Aminobenzoesäure bestehenden Antagonismus. Wesen der Sulfanilamidwirkung.

Gemäss der Auffassung von *Fildes* werden die Mikroorganismen bei Vorhandensein gewisser Hemmstoffe bezüglich ihrer Nährstoffansprüche empfindlicher, indem sie im Gefolge ihrer gehinderten Fermenttätigkeit auch solche Stoffe beanspruchen, die sie sonst ohne Schwierigkeiten erzeugen. Nach *Woods* Entdeckung ist das Gesagte auch von der Sulfanilamidwirkung gültig geworden: Sulfanilsäure, Sulfanilamid bzw. ihre Derivate verdrängen die p-Aminobenzoesäure — vermittels ihrer ähnlichen Struktur — aus dem Bakteriumleib und nehmen deren Stelle ein, ohne jedoch ihre Rolle zu übernehmen. Wie auch schon von *Stamp* vermutet wurde, ersetzt die die Interferenz hervorrufende Verbindung nicht das Ferment, sondern nur seine wirksame Gruppe (prothetische Gruppe, Coferment). Dass der sulfanilamidbedingten Hemmung ein Wettbewerb mit der p-Aminobenzoesäure zugrunde liegt, erhellt aus dem Umstand, dass schwefelfreie Verbindungen, sofern sie eine ähnliche Struktur besitzen, wirksam sein können. Für die Auffassung von *Fildes* lassen sich auch die quantitativen Verhältnisse des Antagonismus auswerten. Zwar wird den Beziehungen der chemischen Struktur zur Wirkung ein besonderes Kapitel gewidmet, erfordert das aufgetauchte Problem eine allgemeine Erörterung schon an dieser Stelle.

Früher legte man der chemotherapeutischen Wirkung die Gruppe



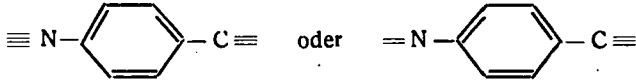
zugrunde. *Bauer* und *Rosenthal*¹⁴ gaben 1939 bekannt, dass die mit Streptokokken infizierte Maus auch mit arsen- oder phosphorhaltigen Benzolderivaten, z. B. mit der 1,4, Nitro-4'-aminodiphenylarsinsäure oder der bis-(4-Dimethylamino-phenylphosphorsäure) erfolgreich behandelt werden kann. Zu dieser Zeit konnte aber noch nicht entschieden werden, ob diese Verbindungen nach einem ähnlichen Mechanismus wie das Sulfanilamid wirken oder eine neuartige chemotherapeutische Wirkung darstellen. Von der Phosphanilsäure wurde im Jahre 1942 festgestellt, dass es die Entwicklung des Streptobakterium *plantarum* aufhebt und die Wirkung der p-Aminobenzoesäure ausgleicht. Demnach sind auch die Moleküle mit der Gruppe



imstande, die p-Aminobenzoesäure zu verdrängen. Dagegen besitzt das ähnliche Arsenderivat keine Sulfanilamidwirkung.

Ähnlich wie die Sulfanilamide, beeinflussen auch die p-Nitro-

benzoesäure und ihre Ester die durch Pneumococcus (*Mayer* und *Oechlin*,²⁶⁹ *Domagk*,⁸⁰ *Barlow*,⁶ *Ivánovics*¹⁶⁷) und Streptococcus viridans (*Gruhzi*¹³⁵) bedingte Infektion der Maus in günstigem Sinne. Nach *Domagk* wirke das „Amonal“ ($O_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO_2 \cdot C_6H_{13}$) auf die Pneumokokkeninfektion noch energischer als das Sulfapyridin und das Sulfathiazol. Auch in meinen Versuchen war die p-Nitrobenzoesäure gegen die Infektion der Mäuse mit Pneumococcus Typ 7 wirksamer als das Sulfanilamid. Die p-Nitrobenzoesäure ($NO_2 \cdot C_6H_4 \cdot COOH$) übt im Caseinnährboden auf den Staphylococcus eine ausgeprägte bakteriostatische Wirkung aus; die Bakteriostase wird von der p-Aminobenzoensäure aufgehoben (*Ivánovics*¹⁶⁰). Ähnliche Beobachtungen machte *Hirsch*¹⁴⁹ mit dem p-Aminobenzamid ($H_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO \cdot NH_2$). Demnach können die Verbindungen mit der Gruppe



gleichfalls sulfanilamidähnlich wirken. In bezug auf die Wirkung der Verbindungen dieser Art sind die Untersuchungen von *Kuhn*²⁰⁵,²⁰⁷ und seinen Mitarbeitern besonders aufschlussreich. Sie, ferner *Auhagen*,⁵ haben festgestellt, dass von dem 4,4'-Diaminodiphenylsulfon ($H_2N \cdot C_6H_4 \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$) ähnlichen schwefelfreien Verbindungen, die p-Aminophenylketone eine Sulfanilamidwirkung besitzen. Dasselbe gilt von dem 4-Nitroacetophenon ($O_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO \cdot CH_3$) und von dem 4-Aminoacetophenon ($H_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO \cdot CH_3$). Ferner fanden *Kuhn*²⁰⁵ und seine Mitarbeiter, dass das 4,4'-Diaminodibenzil ($H_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO \cdot CO \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$) im Reagenzglasversuch gegen das Streptobakterium plantarum 4—6-mal stärker wirkt als das Sulfanilamid. Die p-Aminobenzoensäure hebt auch die Wirkung dieser Verbindung auf. Die Grundbedingung der sulfanilamidartigen bakteriostatischen Wirkung ist eine der der p-Aminobenzoensäure ähnliche Molekularstruktur. Dementsprechend ist z. B. das 4,4'-Diaminostilben ($H_2N \cdot C_6H_4 \cdot CH:CH \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$) unwirksam.

Das Gesagte wird in Tabelle 20. schematisch in übersichtlicher Weise zusammengefasst.

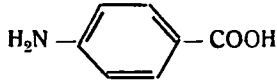
Interessanterweise *wirkt in einer hohen Konzentration auch die p-Aminobenzoensäure hemmend auf das Bakterienwachstum*. *Hirsch*¹⁴⁸ beobachtete, dass der Sauerstoffverbrauch einer gedeihenden Staphylococcuskultur von p-Aminobenzoensäure in grosser Konzentration ebenso herabgesetzt wurde wie vom Sulfanilamid. Diese Wirkung erwies sich als spezifisch; unter ähnlichen Umständen waren die ortho- und meta-Isomere unwirksam. *Auhagen*⁷ gab eine interessante Erklärung für diese Erscheinung. Die im Überschuss vorhandene p-Aminobenzoensäure hindere darum das Zellwachstum, weil die Rolle des Cofermentes nicht von der Säure, sondern von einem peptidartigen Derivat der Säure gespielt werde. Infolge der strukturellen Ähnlichkeit wird das Coferment von dem Rezeptor, dem Apoferment, durch die überschüssige p-Aminobenzoensäure verdrängt, wodurch die Plasmasynthese zu einem Stillstand komme.

Wir geben zu, dass die p-Nitrobenzoesäure sehr ähnlich wirkt wie das Sulfanilamid, dennoch stimmen ihre Wirkungen nicht in jeder Hinsicht überein. Hierfür spricht z. B. die Erfahrung, dass die

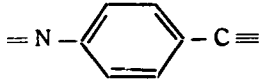
Tabelle 20.

Struktur der *p*-Aminobenzoesäure und Gerüste der bisher bekannten Verbindungen mit einer Sulfanilamidwirkung mit Beispielen.

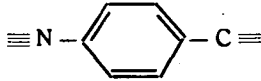
Wuchsstoff (*p*-Aminobenzoesäure)



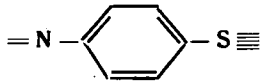
Molekül-Gerüste mit einer Sulfanilamidwirkung.



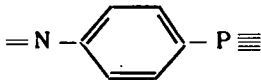
- z. B. 4-Aminobenzamid ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}_2$): ++
 4-Aminobenzoyl-2-amidopyridin ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{C}_5\text{NH}_5$): +
 4-Aminoacetophenon ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_3$): +
 4,4'-Diaminobenzophenon ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CO}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{NH}_2$): ++
 4,4'-Diaminobenzil ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CO}\cdot\text{CO}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{NH}_2$): +++++



- z. B. 4-Nitrobenzoesäure und ihre Ester ($\text{O}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{COOH}$): +++
 4-Nitroacetophenon ($\text{O}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_3$): ++



- z. B. Sulfanilsäure ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{SO}_3\text{H}$): +
 Sulfanilamid ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{SO}_2\text{NH}_2$): +++
 4,4'-Diaminodiphenylsulfon ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{SO}_2\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{NH}_2$): +++++



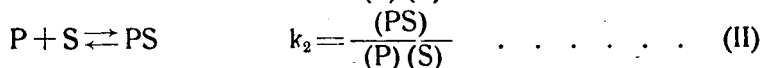
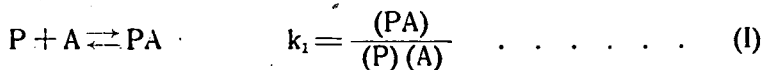
- z. B. Phosphanilsäure ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{PO}_3\text{H}$): +

Bemerkung: die Zahl der Kreuze ist ein Masstab der bakteriostatischen Wirksamkeit.

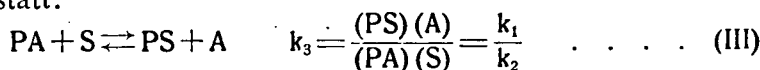
bakteriostatische Wirkung der *p*-Nitrobenzoesäure auf Colibazillen im Glucose-Ammoniumsals-Nährboden von der *p*-Aminobenzoesäure nicht aufgehoben wird. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass ihre auf Staphylokokken ausgeübte bakteriostatische Wirkung (im Caseinnährboden) nicht nur von der *p*-Aminobenzoesäure, sondern bis zu einem gewissen Grade auch von der Pantothenensäure (*Ivánovics*¹⁶⁰) gehemmt wird. Eigentümlicherweise wird von dieser Verbindung das Wachstum der Streptokokken selbst unter idealen Versuchsbedingungen (Caseinnährboden) nicht verhindert.¹⁶⁵ Diese Beobachtungen sprechen ausnahmslos dafür, dass ihr Wirkungsmechanismus von dem der Sulfanilamide abweicht.

Nach der erwähnten Auffassung von *Woods, Fildes, Kuhn* und seinen Mitarbeitern, werde die an dem entsprechenden Rezeptor

gebundene p-Aminobenzoesäure von dem Sulfanilamid in reversibler Weise verdrängt; sonach können beide Stoffe mit dem Rezeptor dissoziationsfähige Synplexe bilden. *Jensen* und *Schmith*¹⁷⁸ betrachten — ähnlich der Auffassung anderer Forscher — die p-Aminobenzoesäure (A) als ein Coenzym, das mit dem eiweissartigen Apoenzym (P) ähnlich wie das Sulfanilamid (S) in eine reversible Verbindung tritt. Auf Grund des Massenwirkungsgesetzes lassen sich diese Prozesse mit folgenden Formeln ausdrücken:



Kommen die einen PA-Synplex enthaltenden, also funktionsfähigen Zellen mit dem Sulfanilamid in Berührung, so findet folgende Reaktion statt:



Demnach ist die bakteriostatische Wirkung umso stärker, je grösser der Wert von k_2 ist, d. i. in einem umso grösseren Ausmass wird die p-Aminobenzoesäure verdrängt.

Der Wettbewerb zwischen Sulfanilamid und p-Aminobenzoesäure um den Rezeptor wurde von *Kuhn*²⁰⁰ in geistvoller Weise mit der Affinität des CO und O₂ zum Hämoglobin verglichen. CO besitzt eine Affinität zum Hämoglobin, die die Affinität des O₂ 200-fach übertrifft, mithin werden sich Oxy- und Kohlenoxydhämoglobin im Falle eines gleichen Partialdruckes zu einander wie 1:200 verhalten. Die Affinität der p-Aminobenzoesäure zum Rezeptor ist grösser als die des Sulfanilamid. Das Verhältnis ihrer Affinitäten erhält man zahlenmässig, wenn man bestimmt, wieviel Moleküle des Chemotherapeutiums die Antagonistenwirkung von 1 mol p-Aminobenzoesäure beheben, richtiger, wenn man das Mengenverhältnis ermittelt, bei dem die Hälfte der maximalen Bakterientwicklung vor sich geht.

Die ersten einschlägigen Versuche (z. B. *Woods*,²⁰³ *Landy* und *Wyano*²¹²) wurden in Fleischbrühe oder Peptonwasser, also in Nährböden, die mit p-Aminobenzoesäure verunreinigt sind, ausgeführt, weshalb sie für dieses Problem von fraglichem Wert sind. Sicher wurden die Ergebnisse dadurch beeinflusst, dass der Nährboden ausser der zugesetzten p-Aminobenzoesäure diese Verbindung auch in Form von Verunreinigung enthielt. Das Verhältnis der Affinitäten kann genau nur für die Bakterien bestimmt werden, die p-Aminobenzoesäure nicht erzeugen, wie z. B. das Streptobakt. plantarum, Cl. acetobutylicum. *Möller* und *Schwarz*²⁸¹ haben im Falle des Streptobakt. plantarum gefunden, dass die Wirkung von 1 mol p-Aminobenzoesäure von rund 5000 mol Sulfanilsäure aufgehoben wird. *Kuhn*²⁰⁷ und seine Mitarbeiter sind der Meinung, dass diese Verhältniszahl für die verschiedenen Sulfanilamidderivate entsprechend ihrer bakteriostatischen Wirksamkeit sehr verschieden sein kann. So sind z. B. von dem p-Aminobenzoyl-aminopyridin 48.000, von dem Sulfanilamid 150, vom 4,4'-Diaminodiphenylsulfon nur 28 Moleküle nötig, um die Antisulfanilamidwirkung von 1 mol p-Aminobenzoesäure aufzuheben.

Demnach besitzt die letztgenannte Verbindung eine $\frac{48.000}{28} = 1.720$ -mal grössere Affinität zum Rezeptor als die zuerst erwähnte. Die Affinität wird nicht nur von der Verbindung bestimmt, sondern sie hängt auch vom Rezeptor ab. Demnach kann das Verhältnis Sulfanilamid : p-Aminobenzoesäure für das nämliche Präparat entsprechend der Bakteriumart bzw. dem Stamm verschiedene Werte aufnehmen. So ist z. B. die Affinität des Sulfanilamid zum Rezeptor des *Cl. acetobut.* auffallend gering; nach *Rubbo* und *Gillispie*³¹⁹ enthemmt 1 mol p-Aminobenzoesäure im Falle dieses Bakteriums 26.000 mol Sulfanilamid. Auf die Rolle des Rezeptors kommen wir in Zusammenhang mit der Sulfanilamidresistenz noch ausführlich zurück.

Die vom Gesichtspunkt der praktischen Chemotherapie wichtigen Mikroorganismen können ihren p-Aminobenzoesäurebedarf beinahe ausnahmslos selbst herstellen. Darum können die Verhältnisse des Antagonismus zwischen Sulfanilamid und p-Aminobenzoesäure bei diesen Bakterien nicht so genau und mengenmässig erforscht werden wie bei den Bakterien, die diese Säure nicht erzeugen. Wir glauben

Tabelle 21.

Antisulfanilamidwirkung der p-Aminobenzoesäure in Staphylococcuskulturen.

Mittel	Bakteriostatischer Titer*	Untersuchung des Antagonismus	
		Konzent. des Mittels**	Qu
Sulfapyridinsulfamid	mol/11.300	mol/500	760
Sulfanilamid	mol/21.400	mol/1.250	950
		mol/1.000	620
		mol/500	540
		mol/200	540
Sulfathiazolin	mol/44.500	mol/10.000	155
		mol/5.000	180
Sulfapyridin	mol/47.000	mol/5.000	58
		mol/1.000	40
		mol/500	44
Uliron	mol/44.500	mol/10.000	35
		mol/5.000	33
Sulfamethylthiazol	mol/323.000	mol/25.000	18
		mol/2.250	18
		mol/1.000	14
		mol/500	10
Sulfaphenylthiazol	mol/4.5000	mol/10.000	15

* die grösste Verdünnung des Mittels, die im 20stündigen Versuch 66% des maximalen Wachstums verhinderte.

** die Antisulfanilamidwirkung untersucht bei der angegebenen Konzentration.

jedoch, dass die von diesen Bakterien erzeugte Menge von p-Aminobenzoesäure vernachlässigt werden kann, insbesondere wenn der Antagonismus bei Vorhandensein grosser Sulfanilamidüberschüsse studiert wird. Mit Rücksicht darauf untersuchten wir diese Probleme bei verschiedenen pathogenen Bakterien mit einer Anzahl von Sulfanilamidderivaten. Selbstredend war der verwendete Nährboden p-Aminobenzoesäurefrei. Die Untersuchungen wurden mit der im Kapitel III. besprochenen Technik durchgeführt: der Nährboden wurde mit einem Vielfachen der zur bakteriostatischen Wirkung erforderlichen Sulfanilamidmenge versetzt, die p-Aminobenzoesäure in wechselnder Menge in die Röhren eingetragen, die Röhren wurden beimpft, die Entwicklung der Bakterien quantitativ ermittelt. Tabelle 21. stellt die Ergebnisse eines Staphylokokkenversuches dar. *Qu* bedeutet die Zahl der Sulfanilamidmoleküle, die bei Vorhandensein von 1 mol p-Aminobenzoesäure das Bakteriumwachstum auf 33% des maximalen Wertes zurückdrängen.

Wie ersichtlich, wird von der p-Aminobenzoesäure im Falle eines geringeren Chemotherapeuticumüberschusses die Wirkung einer grösseren Anzahl der Chemotherapeuticummoleküle aufgehoben als bei Vorhandensein grosser überschüssiger Mengen. Der Grund dieser Erscheinung liegt darin, dass die von den Bakterien erzeugte p-Aminobenzoesäure im Falle eines geringeren Chemotherapeuticumüberschusses besser zur Geltung kommt als bei Vorhandensein grosser Überschüsse. Ferner lässt sich aus der Tabelle feststellen, dass *der Wert von Qu, entsprechend der Theorie, sich umgekehrt wie*

Tabelle 22.

Die bakteriostatische Wirkung von verschiedenen Sulfanilamidderivaten und die Antisulfanilamidwirkung der p-Aminobenzoesäure bei verschiedenen Bakterien.

Das Mittel	Bact. coli ^b	Streptbact. plantarum ^c	Bac. Sonne ^d	Bac. Shiga ^d	Bac. Flexner ^d
	Baktstw. Qu		Baktstw. Qu	Baktstw. Qu	Baktstw. Qu
Sulfanilamid	400 5.000	150	500 2.500	500 2.500	500 1.650
S. guanidin	2.000 1.000		1.000 1.250	1.000 1.250	1.000 830
S. pyridin	50.000 40	65	3.000 21	10.000 125	10.000 50
S. thiazol	200.000 8	35			
S. methylthiazol			20.000 12	3.000 41	40.000 21
Sulfon ^a		28			
Verfasser	Rose und Fox ³¹¹	Kuhn ²⁰⁷ und Mitarb.	Ivanovics ¹⁶⁶		

Erklärung: Baktstw. = bakteriostatische Wirkung; z. B. 400 = mol/400.

Qu = 1 mol p-Aminobenzoesäure hebt die Wirkung von Sulfanilamidmolekülen der angegebenen Zahl auf.

a) 4,4'-Diaminodiphenylsulfon

b) in Glucose-Ammonsalzlösung untersucht

c) in einem Aminosäurenmischung-Nährboden. Die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamidderivate war von der Menge der hinzugegebenen p-Aminobenzoesäure abhängig

d) in Casein-Nährboden untersucht.

die bakteriostatische Wirksamkeit verhält. Dieser Zusammenhang wurde auch in den Versuchen mit anderen Krankheitserregern gefunden (s. Tab. 22.).

Mit dem vom Gesichtspunkt der praktischen Chemotherapie wichtigsten Erreger, dem Streptococcus, wurden zahlreiche Versuche angestellt; ihre Ergebnisse sind in Tabelle 23. zusammengefasst.

Tabelle 23.

Die bakteriostatische Wirkung von verschiedenen Sulfanilamidderivaten auf Streptococcus haemolyticus (Gruppe B).

V e r b i n d u n g	Baktst. Titer	Interferenz	
		Zahl der Einheiten	Qu
4-Aminobenzosulfo-4'-nitroanilid	mol/332.000	22	200
2-Sulfanilamido-4-methylthiazol	mol/290.000	29	300
2-Sulfanilamido-4-phenyl-5-methylthiazol	mol/280.000	28	187
2-Sulfanilamido-5-sulfamidopyridin	mol/145.000	24	350
4,4'-Diaminodiphenylsulfon	mol/145.000	14	249
2-Sulfanilamido-4-methylpyrimidin	mol/97.000	32	770
2-Sulfanilamidopyridin	mol/82.000	8	750
2-Sulfanilamidothiazolin	mol/65.000	13	800
4-Aminobenzosulfoacetamid	mol/64.000	65	800
4-Aminobenzosulfo-4'-aminoanilid	mol/58.000	29	849
4-Aminobenzosulfo-2'-carboxyanilid	mol/47.000		
4-Aminobenzosulfo-4'-dimethylsulfoanilid	mol/47.000	10	670*
4-Aminobenzosulfo-2'-hydroxyanilid	mol/46.000	23	500*
4-Aminobenzosulfo-anilid	mol/45.000	11	822
4-Aminobenzosulfo-2'-chloranilid	mol/42.000	10	622*
4-Aminobenzosulfo-2'-methylanilid	mol/28.000	28	600*
4-Aminobenzosulfo-4'-hydroxyanilid	mol/28.000	14	1.000*
4-Aminobenzosulfonamid	mol/22.000	22	3.250
4-Aminobenzosulfo-3'-carboxyanilid	mol/18.000	18	1.665*
Sulfaguanidin	mol/13.000	13	2.500*
Methylensulfoxysäures Sulfanilamid-Natrium	mol/7.200	7	9.990
4-Aminobenzosulfo-4'-carboxyanilid	mol/6.200		
Sulfanilsäure	mol/3.900	8	7.000
4-Aminobenzosulfo-4'-oxy-5'-carboxyanilid	mol/3.300		
4-Aminobenzosulfoaminoessigsäure	mol/1.430	7	11.000
4-Aminobenzosulfo- β -aminopropionsäure	mol/1.400		
4-Aminobenzosulfoamino-äthansulfosäure	mol/1.100		
Marfanil	mol/1.000	2	0
4,4'-Dioxydiphenylsulfon	mol/1.000	2	0
4-Aminobenzosulfo- α -aminopropionsäure	mol/1.000		
Succinylsulfapyridin	mol/1.000	1,5	0
4,4'-Diacetylaminodiphenylsulfon	> mol/5.000		
Disulfanilimid	> mol/2.500		
Prontosil solubile	> mol/500		
Acetylsulfanilamid	> mol/500		
Succinylsulfanilamid	> mol/500		

Die in dieser Tabelle enthaltenen Ergebnisse lassen den besprochenen Zusammenhang mit einer geringeren Regelmässigkeit erscheinen, da hier der Wert *Qu* nicht immer der umgekehrten Reihe der bakteriostatischen Wirkung entspricht. Wir glauben dieser Erscheinung vor allem technische Momente zugrunde legen zu dürfen: die Abweichung ist einmal durch Versuchsfehler bedingt, zum anderen durch den Umstand, dass die verwendeten Präparate nicht immer mit dem gleichen Überschuss hinzugefügt werden konnten, da sie sich in Wasser zum Teil schwer lösen. Bei der Bestimmung der mit einem * bezeichneten Werte begegneten uns besonders grosse Schwierigkeiten. Um in diesen Fällen eine entsprechende Konzentration des Chemotherapeuticums erreichen zu können, musste das Präparat zunächst in einer mol/10—mol/20 Konzentration in Alkohol gelöst und die Kultur mit der entsprechenden Menge der alkoholischen Lösung versetzt werden. Obwohl die Vermehrung der Bakterien von dieser Alkoholmenge kaum beeinträchtigt werden dürfte, kann diese Methode doch nicht als einwandfrei angesehen werden, denn gerade die auf diese Weise erhaltenen Werte können in die Reihe schwer eingefügt werden. Die leichtlöslichen aber wenig wirksamen Präparate können gleichfalls zu Fehlerquellen Anlass geben: der notwendige Überschuss konnte bei diesen nur im Falle hoher Konzentrationen erreicht werden, wo schon nichtspezifischen antibiotischen Wirkungen (z. B. der Wirkung der Hypertonie) Rechnung zu tragen ist. Werden diese Schwierigkeiten und die sich hieraus ergebenden Fehler berücksichtigt und in Abzug gebracht, so kann festgestellt werden, dass der Zusammenhang zwischen dem *Qu*-Wert, der die Affinität der einzelnen Präparate ausdrückt, und der bakteriostatischen Wirksamkeit im grossen und ganzen auch in diesen Versuchen bestätigt werden konnte.

Dennoch lassen sich in Verbindung mit den Versuchsdaten einige Anomalien beobachten, denen nicht die erwähnten technischen Momente zugrunde liegen. In Tabelle 21. befinden sich für die bakteriostatische Wirkung des Sulfathiazolin und des Sulfapyridin ungefähr gleiche Werte, die entsprechenden *Qu*-Werte weichen aber voneinander wesentlich ab. Ähnliche auffallende Regelwidrigkeiten wurden auch in anderen Versuchen beobachtet (s. Tabelle 23.). Aus diesen möchte ich darauf schliessen, dass die antibiotischen Eigenschaften der Sulfanilamide nicht nur gemäss der Reaktion $S + P \rightleftharpoons SP$, sondern auch auf anderen Wegen zur Geltung kommen. Hier sind zunächst die verschiedenen physiko-chemischen Eigenschaften der Präparate — Lipidlöslichkeit, Penetrationfähigkeit in das Elektroplasma — zu berücksichtigen, ferner der Umstand, dass die Sulfanilamidderivate auf die Bakterien nicht nur spezifisch auf dem Wege über das p-Aminobenzoesäure-Ferment einwirken, sondern, besonders in höheren Konzentrationen, auch andere lebenswichtige Zentren der Zelle schädigen können. Letztere Wirkung dürfte kaum spezifisch und entsprechend der eigenartigen Molekularstruktur der einzelnen Präparate von verschiedener Intensität sein. Die Möglichkeit einer solchen nichtspezifischen antibiotischen Wirkung ist um so mehr in Erwägung zu ziehen, als es mir anlässlich der Untersuchung der bakteriostatischen Salicylatwirkung gelang, ausser einer spezifischen für das Salicylation typischen Wirkung auch die Existenz einer nichtspezifischen Wirkung zu beweisen. Ähnlich kann es sich auch mit den Sulfanilamiden verhalten. Sie besitzen eine spezifischen und eine unspezifisch-antibiotische Wirkung. Wahrscheinlich kommt die letztere, ähnlich wie jede unspezifische Wirkung, bei höheren Konzentrationen stärker zur Geltung. Dieser Umstand liefert eine Erklärung dafür, dass der Zusammenhang zwischen dem bakteriostatischen und dem *Qu*-Wert nicht für jedes Präparat mit der gleichen Regelmässigkeit gefunden wurde. Die Sulfanilamidderivate wurden nämlich in diesen Versuchen zur Bestimmung der *Qu*-werte in grossem Überschuss, in Form von verhältnismässig konzentrierten Lösungen verwendet, weshalb die unspezifische Wirkung stärker her-

vortreten konnte, als bei der Bestimmung des bakteriostatischen Titers. Mit anderen Worten: unter zwei verschiedenen Versuchsbedingungen wurden die Bakterien von Schädigungen getroffen, die gewissermassen auch in qualitativer Hinsicht verschieden sind, so ist es nicht überraschend, dass die besprochenen Unregelmässigkeiten auftraten.

Auf Grund der Ausführungen dieses Kapitels kann die Art der direkten Sulfanilamidwirkung heute schon als geklärt angesehen werden. Ein für die ungestörte Zellfunktion erstwichtiger Rezeptor — wahrscheinlich das Apoferment eines bisher nicht näher bekannten Fermentes — kann seiner Aufgabe nur in Form eines mit der p-Aminobenzoesäure gebildeten Synplexes gerecht werden. Diese Stelle der p-Aminobenzoesäure kann von zahlreichen Verbindungen ähnlicher Struktur übernommen werden, ohne aber ihre Rolle zu übernehmen. *Dieser Fall bedeutet noch nicht den Untergang der Zelle, nur das Aufhören des Plasmasynthese. Wie bereits erwähnt wurde, schädigen Sulfanilamide in starker Konzentration möglicherweise auch andere Bakterienzentren darunter vielleicht auch solche, die für den Katabolismus wichtig sein können.* Hierauf weisen wenigstens die Beobachtungen hin, die über eine geringfügige Atmungshemmung beim ruhenden Bakteriumleib berichten. Wir möchten dieser unspezifischen Wirkung vom Gesichtspunkt der praktischen Chemotherapie keinerlei Bedeutung beimessen, da die Konzentration der Chemotherapeutica im Organismus zu niedrig ist, um eine unspezifische Wirkung entfalten zu können.

Bei der Besprechung der Interferenzerscheinungen wurde gezeigt, dass die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide unter gewissen Versuchsbedingungen *zum Teil* auch von anderen Stoffen vernichtet wird. Von dem Methionin und den im Pepton befindlichen, näher nicht bekannten Stoffen, die zu Interferenzerscheinungen Anlass geben können, denken *Harris* und *Kohn*¹⁴¹ wie folgt: In der Kette des Bakteriumstoffwechsels befinden sich zahlreiche Glieder, die nur in sekundärer Weise sulfanilamidempfindlich seien, indem diese Systeme von dem p-Aminobenzoesäure-Ferment abhängen. Das Sulfanilamid wirke in primärer Weise nur auf das p-Aminobenzoesäure-Ferment ein, wodurch auch die anderen von ihr abhängenden Systeme, nach Erschöpfung ihrer Reserven, funktionsunfähig werden, wodurch die Plasmasynthese, also die Reproduktion, zu einem Stillstand komme. Diese sekundären Systeme seien gegenüber dem Ausfall des p-Aminobenzoesäure-Fermentes nicht gleichweise empfindlich; einzelne werden nur bei hohen Sulfanilamidkonzentrationen lahmgelegt oder sie stellen ihre Funktionen kraft ihrer grösseren Reserven später ein. Hierdurch wäre es erklärlich, dass in synthetischen Nährböden die mit Sulfanilamid nur milde vergiftete Kultur durch Methionin wieder zur Entwicklung veranlasst werden kann, da die anderen sekundären Systeme nur wenig geschädigt worden sind.

Die Annahme, dass das Sulfanilamid nur ein Zwischenglied der Plasmasynthese in primärer Weise schädige, scheint auch deshalb sinngemäss zu sein, da die Tatsache, dass die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilamide erst nach einer Latenzzeit eintritt, anders nicht ausgelegt werden kann. *Woods*³⁹³ führt zur Erklärung der Latenz an, dass das Inoculum eine Menge von p-Aminobenzoesäure

enthalte, die für mehrere Teilungen ausreiche; solange diese nicht erschöpft sei, höre die Entwicklung nicht auf. Diese Erklärung kann aber mit den gegenwärtigen Kenntnissen über die Sulfanilamidwirkung nicht in Einklang gebracht werden. Bekanntlich kommt die Wirkung des Sulfanilamid in der Weise zustande, dass es die p-Aminobenzoesäure von dem entsprechenden Rezeptor verdrängt; dieser Process müsste aber, ähnlich wie jede Adsorption, sofort oder kurz nach der Begegnung mit dem Präparat erfolgen. Der Einwand, dass die Sulfanilamide sich am entsprechenden Rezeptor nur nach einer längeren Zeit ansammeln können, lässt sich schon auf Grund der bisherigen Ergebnisse ausschliessen. *Schmith*³²⁸ beobachtete, dass die Kulturen, in denen nach Hinzufügung des Sulfanilamid die Vermehrung der Bakterien durch längere Aufbewahrung im Eisschrank verhindert wurde, sich nachher bei 37° ebenso verhielten, wie jene, die unmittelbar in den Brutschrank gelegt wurden: *die Bakteriostase trat in beiden Fällen nach einer Latenz ein*. Um diese Erscheinung zu begreifen, ist anzunehmen, dass das p-Aminobenzoesäure-System in der Kette der an der Plasmasynthese beteiligten Glieder an erster Stelle steht. In diesem Fall können die weiteren Systeme mit Hilfe ihrer Reserven die Plasmasynthese noch eine gewisse Zeit lang auch dann aufrecht erhalten, wenn die Tätigkeit der p-Aminobenzoesäure schon aufgehört hat.

Zweifelsohne kann zu therapeutischen Zwecken nur eine Konzentration der Sulfanilamide verwendet werden, die ausschliesslich *bakteriostatisch* wirkt. Selbstredend gehen die Bakterien selbst unter diesen Bedingungen nach einer verschieden langen Zeit zugrunde, es kommt zu einer Erscheinung der Bakterizidie. Dieser Bakteriumuntergang ist unbedingt als eine Folge der Bakteriostase aufzufassen. Einige Erklären diese sekundäre Bakterizidie mit der Annahme, dass die der Sulfanilamidwirkung unterstehenden Bakterien durch „Inanition“ vernichtet werden. Diese Erklärung dürfte kaum zu Recht bestehen, da der Stoffwechsel der Bakteriumzelle vom Gesichtspunkte ihres individuellen Lebens ungestört ist. Wie gezeigt wurde, wird die Atmung der gewaschenen Bakteriumsuspensionen von Sulfanilamiden von geringer Konzentration nicht beeinträchtigt. Das Wesen der Störung liegt in der Regeneration des Bakteriumplasmas, wodurch seine Anfrischung und „Verjüngung“ durch Teilung unmöglich wird. Dies hat das Altern der Zelle zur Folge, weshalb sie früher oder später, entsprechend der Bakteriumart, zugrunde geht. In dieser Beziehung möchten wir noch einmal auf die weiter oben besprochenen elektronmikroskopischen Studien hinweisen, wo die Verfasser (*Vonkennel*³⁷⁰ und seine Mitarbeiter) an Gonokokken unter Sulfanilamidwirkung dieselben Veränderungen beobachteten, wie an den Zellen alter Kulturen.

Zur Ergänzung sei noch ein Versuch mit dem *Proteus vulg.* beschrieben, da hier eine Analogie zur Veranschaulichung der Sulfanilamidwirkung verwendet werden kann. Bekanntlich ist der *Bac. proteus vulg.*, abgesehen davon, dass er nur in der Anwesenheit von Nikotinsäure oder ihres Amids gedeiht (*Fildes*⁹⁴), hinsichtlich Nährstoffe ein wenig anspruchsvoller Mikroorganismus. In einer Milchsäure-Ammoniumsalzmischung wächst er ganz lebhaft, wenn der Nährboden pro ccm mindestens 0,01 γ Nikotinsäureamid enthält. Das

Bakterium kann kraft seines wohlentwickelten Enzymsystems den Erfordernissen der Plasmasynthese in jeder Beziehung gerecht werden, wenn ihm die nötige Menge Nikotinsäure zur Verfügung steht. *Ohne Nikotinsäure ist aber die Plasmasynthese unmöglich; das Bakterium befindet sich im Falle des Nikotinsäuremangels in einer ähnlichen Lage, wie im Falle einer Vergiftung mit Sulfanilamid, da hier gleichfalls ein unentbehrlicher akzessorische Stoff, die p-Aminobenzoessäure bzw. dessen Funktion fehlt.* Dies geht aus nachstehendem Versuch hervor.

Aus der 24stündigen Agarkultur eines Proteus-Stammes wurde eine stark verdünnte Suspension hergestellt und 10 ccm des nach den Vorschriften von Fildes⁹⁴ zusammengesetzten Nährbodens mit der Suspension beimpft. Der Nährboden dient zugleich auch der Verdünnung des Inoculums. Der Nährboden besteht aus 4,5 g Kaliumhydrophosphat, je 0,5 g Ammoniumsulfat und Ammoniumchlorid, 2,5 g Milchsäure, 40 mg Magnesiumsulfat, 5 mg Ferriammoniumzitat in 1 Lit. dest. Wasser. Das pH des Nährbodens liegt bei 7,6. 10 ccm dieses Nährbodens werden mit verschiedenen Mengen von Nikotinsäureamid versetzt und nach Beimpfung sofort und nach verschiedenen Zeitabständen eine gewisse Menge mit geschmolzenem Agar vermischt und zu Platten gegossen. Um die Schwärmung des Bac. proteus zu verhindern, wurde die Oberfläche der Platte mit 0,3 ccm Alkohol begossen, der Überschuss verschüttet und die Platte in der herkömmlichen Weise mild getrocknet. Die Zahl der entwickelten Kolonien wurde nach 48 Stunden festgestellt.

Tabelle 24.

Wachstum des B. proteus vulgaris in verschiedene Nikotinsäuremengen enthaltenden Nährböden.

Züchtungsdauer	Die menge des Nikotinsäureamids pro 10 ccm Nährboden			
	1 γ	0,1 γ	0,01 γ	0,00
0 St.	150	132	162	115
2 St.	252	205	242	199
4 St.	488	433	252	93
8 St.	572	495	120	67
24 St.	1.380	876	58	20
48 St.	++	+	3	0
72 St.	+++	++	0	0

Erklärung: Die Zahlen bedeuten die Zahl der in 1 ccm Kultur enthaltenden Keime. Die Kreuze geben den Grad der mit dem unbewaffneten Auge sichtbaren Entwicklung an. 0 = in 1 ccm Kultur kein lebendes Bakterium.

Aus dem in der Tabelle aufgestellten Versuch lässt sich folgendes ablesen: Die Keimzählung zeigt schon nach 2 Stunden die Vermehrung der Bakterien; zu diesem Zeitpunkt war diese Vermehrung in allen Röhrcchen die gleiche. In den Röhrcchen, die 0,01 γ oder kein Nikotinsäureamid enthielten, nimmt die Intensität des Wachstums nach diesem Zeitpunkt ab. Die eine minimale Menge Nikotinsäureamid enthaltende Kultur war nach 72 Stunden, die Kontrolle nach 48 Stunden frei von lebenden Bakterien.

Es ist ganz klar, dass die nikotinsäureamidfreie Kultur — abgesehen von einer vorübergehenden Entwicklung bedingt durch die Vitaminreserve der Bakterien — vollkommen entwicklungsunfähig

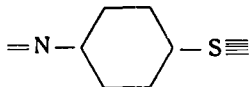
ist, obwohl der Nährboden sonst dem Bakterium vollkommen entspricht. Die fortpflanzungsunfähigen Bakterien gehen nach kurzer Zeit zugrunde, obwohl keine solche Schädigung vorhanden ist, die ihre Vernichtung hervorrufen könnte. Die Lebensbedingungen der Bakterien sind auch in den nikotinsäurefreien Röhren so lange gesichert, bis sie fortpflanzungsfähig sind, d. h. bis ihre Vitaminreserven den Bedarf decken. Das Aufhören der Fortpflanzung bedeutet für sie den Tod, wahrscheinlich darum, weil das veralterte Individuum dem Tod anheimfallen muss.

Der besprochene Versuch scheint als Analogie für die Veranschaulichung der antibiotischen Eigenschaften des Sulfanilamid ein ausgezeichnetes Beispiel zu sein. Die Verhinderung der Plasmasynthese, die Bakteriotase, gewährt für das Verständnis der therapeutischen Wirkung selbst dann eine hinreichende Erklärung, wenn das Arzneimittel keine primären bakteriziden Eigenschaften besitzt.

V. Kapitel.

Beziehungen der chemischen Struktur zur Wirkung.

Dank der in bezug auf den Wirkungsmechanismus der Sulfanilamidderivate gewonnenen Kenntnisse hat die Unsicherheit, die in diesem Problemkomplex noch vor kurzem vorherrschte, nun aufgehört. Da die Sulfanilamidwirkung auf der Ausschaltung des p-Aminobenzoessäure-Fermentes fusst, kann diese Wirkung — wie oben erörtert — von verschiedenen Verbindungen ähnlicher Molekularstruktur herbeigeführt werden. Demnach ist diese Wirkung nicht nur den Derivaten der Sulfanilsäure bzw. des Sulfanilamid eigen. Weder die $-NH_2$ -Gruppe, noch das Schwefelatom gilt als die wesentliche Voraussetzung der Sulfanilamidwirkung. Schwefelfreie, in para-Stellung substituierte Anilin und, Nitrobenzolderivate (z. B. die p-Nitrobenzoessäure) können die für die Sulfanilamide typische bakteriostatische Wirkung entfalten. Eines steht aber über jeden Zweifel: dass die Atomgruppe



in den wichtigsten chemotherapeutischen Präparaten, die sich in der Praxis bewährt haben, immer vorhanden ist.

Früher, als das Wesen der Sulfanilamidwirkung noch nicht geklärt war, trachtete man die Wirksamkeit dieser Verbindungen mit Hilfe der mannigfaltigsten Substitutionen zu steigern. In den der Pronosilentdeckung folgenden Jahren wurden Tausende dieser Verbindungen hergestellt und in chemotherapeutischen Versuchen zum grossen Teil ausprobiert. In das Verzeichnis von *Northey*²⁰⁰ wurden bis April 1940 über 1300 Präparate eingetragen, und von 45% der Präparate standen ihm auch Daten über ihre chemotherapeutische Wirksamkeit zur Verfügung. Heute kann die Zahl der zu chemotherapeutischen Zwecken hergestellten Verbindungen auf rund 3000 geschätzt werden. Obwohl die Mehrheit dieser Verbindungen in systematischen pharmakologischen und therapeutischen Versuchen noch