

## Zur Kenntnis der lichtwirkenden (fluoreszierenden) Stoffe.

Von Prof. Dr. H. v. Tappeiner in München.

Die Mitteilung über Lichtbehandlung nach Dreyer von Prof. Dr. A. Neisser,<sup>1)</sup> worin der Versuch unternommen wird, das Verdienst der Entdeckung dieser neuen Lichtbehandlung Herrn G. Dreyer zuzuwenden und die zeitlich viel früheren Mitteilungen des Münchener pharmakologischen Instituts entweder gar nicht erwähnt oder als irrtümlich und nebensächlich hingestellt werden, veranlaßt mich zu folgenden tatsächlichen Berichtigungen.

1. Die Entdeckung, daß es Substanzen gibt, welche im Licht weit stärker auf Infusorien wirken, als im Dunkeln, wurde nicht von G. Dreyer im Jahre 1903 gemacht, sondern 1899 von O. Raab in einer unter meiner Leitung ausgeführten Untersuchung. Die erste Mitteilung hierüber erfolgte auf der Münchener Naturforscherversammlung, Abteilungs für innere Medizin und Pharmakologie.<sup>2)</sup>

Die Substanzen, welche diese Erscheinung zeigten — ich will sie in der Folge, um sie mit einem Namen zu fixieren, als photodynamische (lichtwirkende) bezeichnen, waren folgende: Akridin, Methylphosphin, Eosin und Chinin. In der gleichen ersten Mitteilung sind auch bereits die weiteren grundlegenden Versuche ausführlich beschrieben, aus denen hervorgeht, daß die photodynamische Wirkung dieser Substanzen nur bei Strahlen bestimmter Brechbarkeit auftritt. Die Methoden waren dieselben, welche auch G. Dreyer vier Jahre später benutzte: Untersuchung im prismatisch zerlegten Lichte und Untersuchung mit verschiedenen Lichtfiltern.

Ein Jahr später wurden die in spezieller Hinsicht auf eventuelle therapeutische Verwertung unternommenen Versuche veröffentlicht, welche dartun, daß diese neue Lichtwirkung (Photodynamie) auch durch tierisches Gewebe hindurch, durch die Haut lebender Meerschweinchen (O. Raab) und durch den Schädel eines frisch getöteten Frosches (Jacobson) erfolgt.

Diese sämtlichen Versuche und Ergebnisse werden von A. Neisser vollständig ignoriert und alles so dargestellt, als ob die Entdeckung und Begründung dieses neuen Gebietes von G. Dreyer ausgegangen wäre.<sup>3)</sup> In Wirklichkeit verhält es sich gerade umgekehrt. G. Dreyer<sup>4)</sup> hat lediglich die von mir und meinen Schülern ausgeführten Versuche mit prinzipiell nicht wesentlichen Modifikationen wiederholt. Neues von grundlegender Bedeutung ist nicht hinzugekommen. Zwischen den Versuchen G. Dreyers und jenen des Münchener pharmakologischen Instituts besteht nur der Unterschied, daß erstere an anderen Organismen, nur mit einer Substanz und mit hochkonzentriertem künstlichen Licht angestellt sind. Das Verfahren des Münchener Instituts mit gewöhnlichem zerstreuten Tageslicht ist sowohl wissenschaftlich vorzuziehen, da die Fehlerquellen viel geringer und leichter übersehbar sind, als namentlich auch in praktischer Hinsicht unvergleichlich einfacher.

2. Was nun die Erklärung der oben besprochenen Lichtwirkung (Photodynamie) anlangt, so wurde bereits in meiner ersten Mitteilung im Jahre 1900 der Sensibilisierung gedacht. Nach Besprechung der verschiedenen Erklärungsmöglichkeiten und der allgemeinen biologischen Bedeutung der Entdeckung wird mit dem Satze geschlossen: „Umgekehrt können sich vielleicht durch Einverleibung, respektive Auftragung von gewissen fluoreszierenden Stoffen bei Einwirkung des Lichtes auch therapeutisch verwendbare Wirkungen einstellen, sodaß dann solche Stoffe z. B. in der Dermatologie eine ähnliche Verwendung finden würden, wie es in der Photographie empirisch schon seit zirka

zehn Jahren mit dem Eosin und anderen fluoreszierenden Farbstoffen als „Sensibilisatoren“ der Fall ist.“

Es ist also auch der Vorschlag einer Lichtbehandlung nach Sensibilisierung, von Neisser als geniale Idee Dreyers bezeichnet, keineswegs neu.

Die Frage, ob die Erscheinung der Photodynamie mit der von H. W. Vogel 1873 entdeckten Sensibilisierung zusammenhängt, und die weitere Frage, ob dieses auch bezüglich der Fluoreszenz der Fall ist, ist experimenteller Prüfung zugänglich, zufolge des glücklichen Umstandes, daß mehrere in den letzten Jahren aufgefundene sensibilisierende Stoffe Aethylrot, Alizarinblausulfid, Cyanin, Diazoschwarz, Glyzinrot, Nigrosin nicht fluoreszieren, d. h. mit Linse in Sonnenlicht untersucht, keinen in Farbe deutlich differenzierten Lichtkegel geben. Es wäre in erster Linie die Aufgabe Dreyers gewesen, diese Stoffe einer Prüfung zu unterziehen, statt „seine Theorie“ auf die Versuche mit einer einzigen Substanz, dem Erythrosin, aufzubauen. Ich habe in Verbindung mit Dr. A. Jodlbauer diese Untersuchung ausgeführt. Das Ergebnis ist schlagend. Sämtliche sechs Stoffe haben auf Paramacien keine Lichtwirkung (Photodynamie). Bei dreien von ihnen konnte ihr Eindringen in die lebende Zelle sicher konstatiert werden. Ebenso zeigten sie keine sicher erkennbare Photodynamie bei Enzymen (Invertin). Daß diese Substanzen nicht vielleicht sonst unter Umständen irgend eine Wirkung auf Zellen und Gewebe unter Einfluß des Lichtes haben können, ist dadurch natürlich nicht gesagt.<sup>1)</sup>

Das gegenwärtig vorliegende Material spricht mit Entschiedenheit dafür, daß Photodynamie und Sensibilisierung keine identischen Erscheinungen sind und eine Lichtbehandlung nach Sensibilisierung im Sinne von Dreyer und Neisser derzeit nicht existiert.

Uebergehend zur weiteren Frage, ob die photodynamische Wirkung mit Fluoreszenz zusammenhängt, hebe ich zunächst hervor, daß ich von jeher diesen Zusammenhang nur als wahrscheinlich bezeichnet habe, solange eben die Fortsetzung der vergleichenden Untersuchung von fluoreszierenden und nicht fluoreszierenden Stoffen ergibt, daß die neue Lichtwirkung nur den ersteren eigen ist. Dieses hat sich auch bisher an einer gemeinsam mit Jodlbauer an Infusorien und Invertin ausgeführten Untersuchung von zirka 100 weiteren, teils fluoreszierenden, teils nicht fluoreszierenden Substanzen als Regel bestätigt, mit der sehr bemerkenswerten Erscheinung, daß die photodynamische Wirkung im umgekehrten Verhältnisse steht zur Fluoreszenzhelligkeit (Intensität des Fluoreszenzlichtes). Es läßt sich dieses unter anderem sehr schön an der Fluoreszeireihe beobachten.

Die Fluoreszenzhelligkeit nimmt ab, die Photodynamie hingegen zu in folgender Reihenfolge: Fluoreszein, Tetrachlorfluoreszein, Tetrabromfluoreszein (Eosin), Tetraiodfluoreszein (Erythrosin), Tetrachlor-tetraiodfluoreszein. Sobald aber die Fluoreszenz erloschen ist, wie im Tetranitrofluoreszein, dem Phenolphthalein und dem Hydrochinophthalein, hat auch die Photodynamie ihr Ende.

3. Neisser stellt bezüglich der Sensibilisierung, bezw. photodynamischen Wirkung den anscheinend Dreyer entlehnten Satz auf (a. a. O. S. 267, Spalte 1):

„Der Vorgang beruht nicht auf Absorption bestimmter Strahlen; denn es gibt eine Anzahl fluoreszierender und nicht fluoreszierender Stoffe, die die gleichen Strahlen absorbieren, wie Erythrosin, aber ohne zu sensibilisieren.“

Hierzu ist zunächst zu bemerken, daß chemische Wirksamkeit von Licht immer auf Absorption beruhen muß. Die Sensibilisierung und die photodynamische Wirkung sind Spezialfälle dieser photochemischen Absorption, die nicht mit Notwendigkeit in ein und derselben photochemisch wirkenden Substanz vereinigt zu sein brauchen. Ganz allgemein betrachtet scheint mir dieser Satz auch im Widerspruche mit dem Prinzip der Erhaltung der Kraft. Bei der Zerstörung niederer Organismen, bei der Wirkung auf höhere Zellen, Enzyme und Toxine wird doch wohl Energie, wenn auch nur in Form einer Auslösung verbraucht.<sup>2)</sup> Woher soll diese kommen, außer von gewissen absorbierten Strahlen?

Es wäre verfrüht, sich über den Vorgang der photodynamischen Wirkung in nähere Spekulationen einzulassen, zumal das Gebiet der Photochemie und der Fluoreszenz noch so wenig theoretisch analysiert ist. Der Schwerpunkt liegt nach wie vor in der experimentellen Fest-

1) Ein Versuch von Halberstädter mit Zyanin an sich selbst (a. a. O. S. 268, Spalte 2) kann vielleicht dahin gedeutet werden. Es ist indes auch möglich, daß die dabei aufgetretene, nicht näher beschriebene Hautreaktion eine Folge der Zersetzung des Zyanins durch das konzentrierte Licht war, da dieser Farbstoff bekanntlich äußerst lichtunecht ist.

2) In einer früheren Mitteilung wurde die Vermutung ausgesprochen, daß dieser Energieverbrauch zu einer Erhöhung der Giftigkeit führe. Für die von mir entdeckte Wirkung der photodynamischen Stoffe auf Enzyme und Toxine (Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft 1903, S. 3035), auf die Neisser ebenfalls nicht eingeht, obwohl sie nicht minder wichtig ist, wie die Wirkung auf Zellen, ist diese Erklärungsmöglichkeit kaum anwendbar. Näheres bleibe der ausführlichen Publikation vorbehalten. Nur die Angabe Neissers, daß das Erythrosin im Dunkeln für Infusorien im Vergleich zu Eosin so gut wie ungiftig sei, darf nicht unbesprochen bleiben, weil Neisser auf dieses Argument großes Gewicht legt. Die anscheinend Dreyer entnommene Angabe muß auf einem Irrtum beruhen, denn nach den Untersuchungen von Jodlbauer und mir ist Erythrosin auch im Dunkeln erheblich giftiger, als Eosin: in Eosinlösung 1 : 1500 bleiben Paramacien bis zu einer Woche am Leben. In Erythrosinlösung derselben Konzentration sterben sie in zirka sechs Stunden.

1) Diese Wochenschrift 1904, No. 8, S. 265. — 2) Der Vortrag ist abgedruckt in der Münchener medizinischen Wochenschrift 1900, No. 1, S. 1. Ausführliche Mitteilung durch O. Raab in der Zeitschrift f. Biologie Bd. 39, S. 524—546. — 3) Eine im Vergleich zu diesen Veröffentlichungen unbedeutende Dissertation von Danielson und der Nachtrag zur ersten Arbeit von Raab, worin den oben aufgeführten fünf photodynamischen Stoffen zwei neue (Chinolinrot und Harmalin) hinzugefügt werden, sowie die Versuche von Jacobson über das Flimmerepithel werden hingegen erwähnt, jedoch nur so nebenbei und ohne eigentliches Zitat. — 4) Dermatologische Zeitschrift Bd. 10, S. 578. Der Arbeiten des Münchener pharmakologischen Instituts wird darin mit keiner Silbe Erwähnung getan. Da die ausführliche Abhandlung von Dreyer bisher nur in dänischer Sprache erschienen ist, kann ich mich im übrigen nur auf das von Neisser gegebene Referat beziehen.

stellung auf möglichst umfassender Grundlage. Ich gebe daher meine Ansicht, wie sich die bisher von mir und meinen Schülern erhaltenen experimentellen Ergebnisse ordnen lassen, nur mit allem Vorbehalt: der Vorgang ist eine Absorptionerscheinung. Nicht alle absorbierenden Stoffe aber zeigen ihn, jene vornehmlich nicht, wo die absorbierte Energie schließlich lediglich in Wärme umgewandelt wird. Hingegen zeigen ihn, so weit die Untersuchungen bisher reichen, in der Regel jene Stoffe, welche gleichzeitig die Erscheinung der Fluoreszenz bieten, d. h. bei welchen ein Teil der absorbierten Strahlen in Strahlen anderer Brechbarkeit umgesetzt wird. Da aber nicht das ausgesandte Fluoreszenzlicht das wirksame ist (nach bereits in der ersten Mitteilung 1900 gemachten Beobachtungen), so ist anzunehmen, daß der Vorgang an einen dritten Teil von Energie gebunden ist, der absorbiert geblieben und der um so größer ist, je geringer die Fluoreszenzhelligkeit zur gesamten Absorption steht.

Bezüglich der Tiefenwirkung der photodynamischen Substanzen bin ich zu folgender Anschauung gelangt: da durch die Untersuchungen verschiedener Forscher jetzt als festgestellt betrachtet werden kann, daß die Strahlen um so tiefer in das Gewebe eindringen, je geringer ihre Brechbarkeit ist, sind bei der Wahl von photodynamischen Stoffen zu therapeutischen Zwecken unter sonst gleichen Umständen jene zu bevorzugen, welche Licht von geringer Brechbarkeit (grün, gelb, rot) absorbieren und welche nur mit mäßiger Helligkeit fluoreszieren.

Ich betrachte diese Sätze natürlich vorerst nur als sogenannte Arbeitshypothesen, geeignet zum Entwerfe neuer Versuchsanordnungen und zur Deutung bereits vorhandener Beobachtungen.

Daß sie dieses leisten, zeigen zwei Beobachtungen, die auf Veranlassung von Neisser Halberstädter ausgeführt hat (a. a. O. S. 268) und welche ihr Autor als gegen meine Auffassung des Zusammenhanges von photodynamischer Wirkung und Fluoreszenz sprechend glaubt. Er sagt: „Dagegen sah ich bei der obigen Versuchsanordnung keinerlei Lichtwirkung auf die Froschzunge, wenn ich Lösungen von Harmalin und Fluoreszein zur Injektion verwandte. Es sind dieses die sehr stark fluoreszierenden Stoffe, die von Tappeiner etc. verwandt wurden, ein weiterer Beweis dafür, daß nicht Fluoreszenz es ist, welche die Wirkung ausübt.“

Die Erklärung ist nach meiner Aufstellung sehr einfach. Das Harmalin hat auf das Gewebe der belichteten Froschzunge nicht gewirkt, weil es indigoblau fluoresziert, mit anderen Worten, weil es nur violette und ultraviolette Strahlen absorbiert, welche nicht tief genug in das Gewebe eindringen. Fluoreszein hat sein Absorptionsband auch noch zu weit im brechbaren Teil des Spektrums, außerdem hat es im Verhältnis zur Absorption zu große Fluoreszenzhelligkeit. Tatsächlich wirkt es nach meinen, respektive Jodlbauers Untersuchungen selbst auf freiliegende Zellen nur mit sehr mäßiger Intensität.

Das von Dreyer und Neisser bei ihren Untersuchungen ausschließlich verwendete Erythrosin (Tetraiodfluoreszein) hat nach beiden Richtungen Vorteile. Es absorbiert Strahlen von geringerer Brechbarkeit (grün) und hat nur schwache Fluoreszenzhelligkeit. Seine sehr gute Wirkung auf Infusorien und Enzyme ist mir schon seit längerer Zeit bekannt. Das in früheren Publikationen aufgeführte Magdalarot des Handels (Grübler) ist ein Erythrosin, d. h. ein jodiertes Fluoreszein. Der starke Jodgehalt der Erythrosine — Tetraiodfluoreszeinnatrium — enthält 57,7% Jod! — aber schließt ihre Verwendung zur Erprobung einer neuen phototherapeutischen Methode, zumal für tuberkulöse undluetische Affektionen völlig aus. Die nach der sogenannten „Methode Dreyer“ mit Erythrosin (Tetraiodfluoreszeinnatrium) erhaltenen therapeutischen Ergebnisse werden daher zunächst nur mit großer Reserve aufzunehmen sein.<sup>1)</sup> Bei dem von mir in Verbindung mit Dr. Jesionek angewandten Eosin (Tetrabromfluoreszeinnatrium), das dem Erythrosin optisch am nächsten steht, ist dieses weit weniger der Fall, da „Bromwirkungen“ bei Tuberkulose, Lues u. s. w. nicht bekannt sind.