XVIII.

1. Ueber die antibacteriellen Wirkungen einiger Anilinfarbstoffe.

(Nach Versuchen des Dr. August Beckh aus Nürnberg.)

Von

Prof. Penzoldt.
in Erlangen.

Es war vielleicht eine etwas oberflächliche Gedankenverbindung, denjenigen Farbstoffen, welche zur Färbung der Spaltpilze in mikroskopischen Präparaten so vorzüglich geeignet sind, auch eine bakterienfeindliche Wirkung zuzutrauen, doch schienen mir einige Vorversuche die Vermuthung einigermaassen zu rechtfertigen. Daher habe ich Herrn Dr. Beckh zu einer methodischen Untersuchung der Frage angeregt und möchte über die in seiner Dissertation niedergelegten Resultate, um sie denen, die sich dafür interessiren, bequemer zugänglich zu machen, wenigstens ganz in Kürze berichten.

Bei der Auswahl der Farbstoffe wurde 1. darauf gesehen, dass sie wasserlöslich waren, weil diese Eigenschaft sowohl zur Prüfung auf die pilztödtende Wirkung, als zur eventuellen praktischen Verwerthung wesentlich erscheint; 2. wurden wo möglich nur arsenfreie Präparate verwendet, sei es, dass sie, wie Malachitgrün, Methylviolet, Rose Bengale, Methylenblau, überhaupt nicht mit Arsen verunreinigt zu sein pflegen, sei es, dass sie von der Fabrik (Merck oder Kahlbaum) mit dem ausdrücklichen Vermerk „arsenfrei“ versehen waren. Die in den Bereich der Untersuchung gezogenen Substanzen sind: 1. Malachitgrün (Tetramethyldiamidotriphenylcarbinol, $C_{23}H_{26}N_2O$, als Oxalat); 2. Fuchsin (Rosanilin oder Triamidodiphenyltolylcarbinol); 3. Hofmann's Violett (Trimethylrosanilin, $C_{23}H_{27}N_3O$, als salzsaures Salz); 4. Methylviolet (Gemenge von Tetra-, Penta-, Hexamethylrosanilin); 5. Phenylblau (Triphenylrosanilin, $C_{20}H_{19}[C_6H_5]_3N_3O$, als Natriumsalz der Sulfonsäure); 6. Corallin (Gemenge von $C_{19}H_{13}O_2NH_2$ und $C_{19}H_{12}O[NH_2]_2$); 7. Eosin

(Tetrabromfluoresceïn, $C_{20}H_5Br_4O_5$, als Kaliumsalz); 8. Rose Bengale (Tetrajodfluoresceïn, $C_{20}H_5J_4O_5$, als Natriumsalz); 9. Methylorange (dimethylamidoazobenzolparasulfonsaures Natrium); 10. Vesuvin ($NH_2C_6H_4N-NC_6H_3(NH_2)_2$); 11. Tropäolin (diphenylamidoazobenzolsulfonsaures Kalium, $KC_{18}H_{14}N_3SO_3$); 12. Scharlachroth ($C_{22}H_{16}N_4O_7$); 13. Congoroth (diphenyltetraazo- α -naphthylaminsulfonsaures Natrium); 14. Indulin ($C_{18}H_{15}N$); 15. Methylenblau ($C_{16}H_{18}N_3SHCl$).

Die pathogenen Spaltpilze, auf welche die Einwirkung der genannten Substanzen geprüft wurde, waren *Staphylococcus pyogenes aureus* und der *Milzbrandbacillus*. Als Methode diente hauptsächlich die Koch'sche Seidenfädenmethode, welche nur zuweilen durch das Esmarch'sche Rollverfahren, sowie durch Culturversuche auf farbstoffgetränkten Nährböden ergänzt wurde. Besonderes Gewicht glaubte ich darauf legen zu müssen, dass der Contact der auf ihre antibacteriellen Eigenschaften zu untersuchenden Substanz mit den pilzgetränkten Fäden kein zu langer war. Für die eventuelle Verwerthung in der Praxis, das Endziel aller derartigen Versuche, ist es viel wichtiger, dass ein Antisepticum bei kurzer (minutenlanger) Berührung die Spaltpilze entwicklungsunfähig macht, als dass derselbe Effect erst nach Stunden oder gar Tagen erreicht wird. Aus diesem Grunde wurden mit den Stoffen, welche sich wirksam gezeigt hatten, schliesslich die Versuche so angestellt, dass der Seidenfaden nur 1 Minute in der Versuchsflüssigkeit blieb und dann 1 Minute in destillirtem Wasser ausgewaschen wurde, ehe er auf die Nährgelatine kam.

Es mögen nun kurz die Resultate folgen. Schon der erste Versuch, welcher mit sämmtlichen aufgezählten Farbstoffen in 0,2proc. Lösungen bei 10 Minuten langer Einwirkung auf Fäden mit *Staphylococcus pyogenes* ausgeführt wurde, zeigte uns, dass von allen Substanzen nur 4 (Methylviolett, Malachitgrün, Phenylblau und Trimethylrosanilin) völlig entwicklungshemmend bis zum 5. Tag und 4 andere so verzögernd wirkten, dass sich ein weiteres Studium der Wirkung verlohnte. Ein zweiter Versuch mit gesättigten Lösungen und 1 Minute langer Einwirkung liess für die fernere Untersuchung als besonders geeignet erscheinen: Methylviolett, Malachitgrün, Trimethylrosanilin, Rose Bengale, Phenylblau und Methylenblau. Von diesen verhinderten constant (bei 1 Minute dauernder Einwirkung, bei ebensolcher mit ebenso langem Auswaschen, sowie bei 3 Minuten Einwirkung und 3 Minuten Waschen) jede Entwicklung von *Staphylococcus pyogenes* ziemlich gesättigte Lösungen von: Methylviolett

(2 Proc.), Malachitgrün (4 Proc.) und Rose Bengale (10 Proc.). Betrachtlich verzögernd oder zuweilen aufhebend wirkte Trimethylrosanilin (0,2 Proc.), Phenylblau (4 Proc.) und Methylenblau (3 Proc.). Die Rollmethode bestätigte die antibacterielle Wirkung für Methylviolett, Malachit, Rose Bengale und Methylenblau. Versetzte man die Nährgelatine mit Methylviolett, Malachitgrün oder Methylenblau in 0,07—0,13 proc. Verdünnung, so wurde das Wachsthum des Pyogenes ebenfalls verhütet.

Die Entwicklung von Milzbrandbacillen hoben in allen Versuchen übereinstimmend auf: Methylviolett, Malachitgrün, Trimethylrosanilin und Phenylblau in concentrirten Lösungen, selbst wenn die Berührung nur 1 Minute gedauert hatte.

Wollte man diese Ergebnisse für eine eventuelle Benutzung der Farbstoffe zur Wundbehandlung verwerthbar zu machen suchen, so war in erster Linie ein Urtheil über den Grad der Giftigkeit zu gewinnen. Da nun aber die bei den Spaltpilzversuchen zur Anwendung gekommenen gesättigten Solutionen je nach der Löslichkeit einen so ausserordentlich verschiedenen Gehalt an Farbstoff besaßen (Rose Bengale z. B. 10 Proc., während Trimethylrosanilin nur 0,2 Proc.), so schien es vortheilhaft, nicht gleiche Gewichtsmengen von den einzelnen Stoffen zu Vergiftungsversuchen an Thieren zu verwenden, sondern die Dosis pro Kilo im Verhältniss zur Concentration der antibacteriell wirksam befundenen Verdünnung zu bemessen. Es wurde demnach von Malachitgrün und Phenylblau (Lösung 4 Proc.) 0,1 pro Kilo, von Methylviolett (2 Proc.) 0,05 pro Kilo, von Rose Bengale (10 Proc.) 0,25 pro Kilo, von Methylenblau 0,075 pro Kilo versucht, nur von Trimethylrosanilin etwas mehr, als dem Verhältniss entsprach, 0,02 pro Kilo.

Es ergab sich nun für die 6 Substanzen, in den angegebenen Mengen bei Kaninchen subcutan applicirt, folgendes Resultat: Methylviolett (0,05 p. Kilo) bewirkte nur örtliche Veränderungen (ausgedehnte Hautgangrän); Malachitgrün (0,1 p. Kilo) machte eine am 3. Tage beginnende, am 9. tödtliche motorische Lähmung mit zeitweisen Krampferscheinungen; Trimethylrosanilin (0,02 p. Kilo) führte ebenfalls zu immer stärkerer, am 10. Tage vollständiger Muskellähmung; Rose Bengale (0,25 p. Kilo), Phenylblau (0,1 p. Kilo) und Methylenblau (0,075 p. Kilo) hatten keine bemerkenswerthen Störungen zur Folge.

Die mitgetheilten Thatsachen können als Materialien gelten, aus denen man die etwa beim Menschen zur aseptischen und antiseptischen Wundbehandlung zulässigen Dosen versuchsweise ableiten könnte.

Freilich fehlt in dieser Beziehung noch sehr viel und sehr wahrscheinlich ist es von vornherein gerade nicht, dass Stoffe von solcher Färbekraft je praktisch verwendbar werden können. Ich selbst habe mich bisher nur bei einer Krankheit für berechtigt gehalten, einige Versuche in der Praxis zu machen, nämlich bei der Diphtherie. Unsere Machtlosigkeit dieser Krankheit gegenüber erlaubt uns meines Erachtens jedes Mittel, von dessen Unschädlichkeit wir uns überzeugt haben, versuchsweise in Anwendung zu bringen. Eine Reihe von Fällen habe ich mit den nach obigen Versuchen sicher für den Körper als nicht nachtheilig ermittelten Mengen von Methylviolett und Malachitgrün vorsichtig, d. h. ohne Blutung zu erzeugen, gepinselt. Obwohl weitaus die meisten günstig verliefen und eine schädliche Einwirkung sicher nie eintrat, war doch ein sichtlicher Erfolg nicht zu verzeichnen. Auch in anderer Hinsicht hat sich eine von mir gehegte Erwartung nicht bestätigt. Ich hatte nämlich gehofft, aus der Färbung der Membranen für die Diagnose einen Gewinn zu ziehen, derart, dass sich vielleicht diphtherische Auflagerungen den Farbstoffen gegenüber anders verhalten würden als andere, oder dass man das Fortschreiten der Membranbildung eventuell durch die Färbung besser beurtheilen könnte. Es stellte sich aber heraus, dass sich die diphtherischen Membranen entweder gar nicht färbten, oder nach kurzer Zeit die Farbe wieder verloren, während die Schleimhaut und Haut viel intensiver und länger gefärbt waren und blieben.

2. Einige Wirkungen der Acetanilido- und Formanilidoessigsäure.

(Nach Versuchen des Dr. P. William Weber aus Gobatis in Süd-Afrika.)

Von

Prof. Penzoldt.
in Erlangen.

Von den Herren Paal und Otten wurden im hiesigen chemischen Laboratorium aus Acetanilid, bezw. Formanilid die Acetanilido- und Formanilidoessigsäure dargestellt. Durch Einwirkung von Chloressigäther auf die Natriumverbindung des Acetanilids (Formanilids) entsteht Acetanilidoessigäther (Formanilidoessigäther) und durch Verseifung dieses mit alkoholischer Natronlauge acetanilidoessigsäures (formanilidoessigsäures) Natrium, aus dem durch Fällen mit Mineral-

säuren die Acetanilido- (Formanilido-) Essigsäure erhalten wird (von der Formel $\text{C}_6\text{H}_5\text{N} \begin{smallmatrix} \text{COCH}_3 \\ \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} \end{smallmatrix}$).

Die nahe Beziehung der genannten Körper zu dem als Arzneimittel vielgebrauchten Acetanilid oder Antifebrin, sowie zu dem nach eigenen unveröffentlichten Versuchen diesem ähnlich wirkenden Formanilid liessen eine Untersuchung derselben auf ihre hauptsächlichsten pharmakodynamischen Eigenschaften und auf eventuelle therapeutische Verwerthbarkeit gerechtfertigt erscheinen. Dieselbe wurde von Dr. W. Weber ausgeführt und in dessen Dissertation (Erlangen 1889) niedergelegt. Es sei mir gestattet, über die Ergebnisse, um sie den Fachgenossen leichter zugänglich zu machen, in Kürze an dieser Stelle zu berichten.

Die in Wasser schwer lösliche Acetanilidoessigsäure, sowie deren Natriumverbindung sind weniger giftig als Acetanilid. Die Säure zu 0,5 pro Kilo Kaninchen zeigte keine Giftwirkung, ebenso wie sie auch in Gaben von 4,0 beim Menschen keine Störungen verursachte. Auf Circulation und Respiration hatte das Natriumsalz zu 0,7 pro Kilo Kaninchen keinen erheblichen Einfluss, insbesondere wurde der Blutdruck nicht wesentlich alterirt. In stärkeren Lösungen direct zum Blut zugesetzt, verändern die Substanzen das Hämoglobin und erzeugen einen Absorptionsstreifen im Roth zwischen C und D des Spectrums (Methämoglobinstreifen). Fäulniss und Entwicklung des Eitercoccus zu verhindern sind sie nicht im Stande.

Vor der Besprechung der Formanilidoessigsäure und ihres Natriumsalzes sei eine Bemerkung über das Formanilid selbst eingeschaltet. Dasselbe schien nach meinen Versuchen entschieden giftiger zu sein, als das Antifebrin, was auch in der leichteren Zersetzlichkeit des ersteren seine Erklärung findet. Die therapeutische Einwirkung dagegen sowohl auf Fieber, als auf Schmerzen (Kopfschmerz) ist, obwohl vorhanden, doch deutlich geringer. Die Formanilidoessigsäure verhielt sich nun anders zum Formanilid, als die Acetanilidoessigsäure zum Antifebrin. Sie schien etwa so giftig zu sein, wie Formanilid. Eine wesentliche Beeinflussung von Herz und Athmung war auf ca. 0,7 pro Kilo beim Kaninchen nicht zu bemerken, insbesondere auch nicht bezüglich des Blutdrucks. Dagegen wurde schon bei subcutaner Anwendung von 0,25 pro Kilo Formanilidoessigsäure der Methämoglobinstreifen im Blut des vergifteten Thieres constatirt, etwa wie bei directem Zusatz stärkerer Lösungen zum Blut. Fäulniss und Bacterienentwicklung hielt auch die Formanilidoessigsäure nicht auf.

In therapeutischer Hinsicht wurde das formanilidoessigsäure Natrium von Dr. Weber in zwei Selbstversuchen geprüft, einmal innerlich zu 1,0 bei leichtem Fieber infolge von Angina und ein zweites Mal bei einer rheumatischen Affection der Rückenmuskulatur in subcutaner Anwendung von 1,0. Die Körpertemperatur wurde gar nicht, der Rheumatismus höchstens ganz vorübergehend beeinflusst. Die örtliche Einwirkung auf das Unterhautzellgewebe war gering.

Die Acetanilidoessigsäure wurde nach Analogie des Antifebrins viel häufiger bei Kranken versucht. Es zeigte sich, dass die Körperwärme, weder die normale, noch die erhöhte, nicht im Geringsten durch Gaben von 1,0 und darüber beeinflusst wird. Dergleichen fehlte auch die Einwirkung auf rheumatische und neuralgische Beschwerden so gut wie ganz. Dr. Weber wollte an sich selbst einigen Erfolg bemerkt haben. An Kranken der Poliklinik konnten wir jedoch nie einen deutlichen Effect constatiren.

Die Ursache der im Verhältniss zum Acetanilid geringen Giftigkeit und des Mangels der therapeutischen Wirksamkeit der Acetanilidoessigsäure ist jedenfalls in der grossen Beständigkeit der Substanz zu suchen. Mit dieser Erklärung in Uebereinstimmung befindet sich auch die Thatsache, dass die nach Antifebrin im Harn auftretende Paraamidophenolreaction nach Darreichung der Acetanilidoessigsäure nicht beobachtet werden konnte.