

Streptomycin bei der akuten allgemeinen Miliartuberkulose und Meningitistuberkulose und andererseits in der überlegenen Wirksamkeit des Conteben gegenüber Hauttuberkulose und vor allem den verschiedenen Formen der Schleimhauttuberkulose (Kehlkopf, Blase, Darm). Von der Lungentuberkulose kommen für die Conteben-Behandlung alle Formen und Stadien in Betracht. Jedoch sind die Erfolgsaussichten ungleich. Gute Aussichten bieten, wie Klee als einer der erfahrensten Kenner des Präparates in Übereinstimmung mit zahlreichen Klinikern feststellte, die exsudativen Frühformen, frische lokalisierte hämatogene und bronchogene Streuungen, Formen mit kleinen und großen, jungen, noch wenig starrwändigen Cavernen, die Bronchus-Tuberkulose, sowie die proliferativ cirrhotisierenden Formen mit langsamem Fortschreiten. Günstig ist auch die Wirkung bei beginnender Pleuritis exsudativa. In dieser Hinsicht besteht eine weitgehende Parallelität zum Streptomycin. Die p-Aminosalicylsäure entfaltet gegenüber diesen Formen und Stadien der Tuberkulose gleichfalls ihre beste Wirksamkeit, wenngleich sie wirkungsmäßig aus den bereits erwähnten Gründen hinter dem Streptomycin und dem Conteben zurückbleibt.

Unbefriedigend oder schlecht sind die Aussichten für die orale Anwendung aller drei Tuberkulosemittel bei ausgedehnten exsudativ-käsig-cavernösen Formen, bei cirrhotisch großcavernösen Formen mit frischen bronchogenen käsigen Infiltrationen sowie bei Komplikationen, die die Abwehrlage des Körpers schwächen, wie dem Diabetes, der Lues latens, bei Mischinfektionen oder kachektischer Altersphthise, bei Virusgrippe und dem Puerperium. Bei den cavernösen Formen besteht Aussicht auf bleibende Bakillenfreiheit des Sputums auch nach langdauernder Chemotherapie nur dort, wo die Cavernen beseitigt werden können.

Kombinationen

Es liegt auf der Hand, daß eine sinnvolle Kombination dieser drei Tuberkulostatika eine Erweiterung des Indikationsbereiches für die Chemotherapie der Tuberkulose ergeben muß und daher anzustreben ist. Diese Kombinationstherapie erstreckt sich nicht nur auf die gleichzeitige Anwendung zweier oder auch aller drei Tuberkulostatika, so wie sich z. B. die kombinierte Streptomycin-Conteben-Therapie bei der Meningitis-Tbc. bewährt oder auch die kombinierte Conteben – p-Aminosalicylsäure – bzw. Streptomycin – p-Aminosalicylsäure-Medikation bei der Lungentuberkulose besondere Leistungen gezeigt hat. Die Kombination muß sich vielmehr auch auf die verschiedensten Anwendungsmöglichkeiten der Präparate ausdehnen, so z. B. im Sinne einer oralen neben einer lokalen Therapie. Besondere Beachtung verdient diese Kombinationstherapie bei der Behandlung der Caverne, die nur im Frühstadium, d. h. im Stadium guter Durch-

blutung der Cavernen-Wand auf oralem oder parenteralem Wege chemotherapeutisch erreichbar und beeinflußbar ist. Hier hat sich die lokale Chemotherapie in Kombination mit der oralen und parenteralen als neuer Weg zur Indikationserweiterung der Chemotherapie der Tuberkulose bewährt. Es würde zu weit führen, nähere Einzelheiten über die bisher erprobten Methoden der lokalen Cavernenbehandlung aufzuführen. Es sei lediglich erwähnt, daß zur Zeit drei Verfahren besonderes Interesse beanspruchen, und zwar die Instillation von Conteben-Suspensionen in Glycerin im Anschluß an die *Monaldi-Drainage* nach *Malluche*, die Einblasung von Conteben in feinst verteilter Form nach der Methode von *Lemberger* oder von *Wackerbauer* und nicht zuletzt die Cavernostomie nach *Maurer* unter Verwendung von p-Aminosalicylsäure-Lösung. Vermehrtes Interesse beansprucht in jüngster Zeit auch die Inhalation insbes. von Conteben als feinst vermahlenes Pulver im Frühstadium, zumal die Erfahrung gezeigt hat, daß es auch bei der Chemotherapie der Tuberkulose anzustreben ist, möglichst hohe Medikamentenkonzentrationen an den Ort der Einwirkung zu bringen, ohne hierbei den Organismus durch zu hohe orale bzw. parenterale Dosen über Gebühr zu belasten. Es ist daher zu erwarten, daß die lokale Chemotherapie des tuberkulösen Herdes zumindest dieselbe Bedeutung erlangen wird, wie dies bei der lokalen Chemotherapie bakterieller Infektionen mit Sulfonamiden und Penicillin bereits jetzt der Fall ist.

Es kann als besonderer Vorteil gewertet werden, daß dem Kliniker heute bereits drei klinisch wirksame Tuberkulostatika zur Verfügung stehen und ihm somit die Möglichkeit gegeben ist, jedes im Rahmen seiner optimalen Wirkungsmöglichkeiten einzusetzen. So wird zum Beispiel heute schon von namhaften Klinikern wie *Westergren* und vielen anderen gefordert, Streptomycin für die Behandlung der miliaren Formen der Tuberkulose aufzuheben bzw. nur dann bei anderen Formen der Tuberkulose anzuwenden, wenn mit Conteben oder p-Aminosalicylsäure bzw. der kombinierten Anwendung beider Präparate kein Erfolg zu erzielen ist. Mit Rücksicht auf die relativ leicht zu erzeugende Resistenz von Tuberkelbazillen gegenüber Streptomycin, bringt eine vorzeitige Verwendung des Präparates die Gefahr mit sich, beim Eintritt miliarer Streuungen, insbes. einer Meningitistuberkulose gegen diese lebensbedrohlichen Komplikationen keine Waffe mehr in der Hand zu haben.

Die klinischen Erfahrungen mit Conteben, Streptomycin und p-Aminosalicylsäure haben nicht nur erfreuliche und z. T. überraschende Erfolge im Kampf gegen die Tuberkulose ermöglicht, sie haben auch gezeigt, welche Lücken in der Therapie noch bestehen und zu schließen sind – und diesem Ziel dient die weitere Forschung.

Eintrag am 9. März 1951

[A 341]

Papierchromatographie und Ionophorese von Oxycarbonsäuren und ihre quantitative Bestimmung

Über Retentionsanalyse V*)

Von Prof. Dr. TH. WIELAND und URSULA FELD

Organisch-chemisches Institut der Universität Mainz

Die retentiometrische Analysentechnik mit einem Reagens aus Kupferacetat in einer 5% wasserenthaltenden Tetrahydrofuran-Lösung läßt sich auf alle Stoffe anwenden, die eine darin unlösliche Kupfer-Verbindung eingehen. So die Aminosäuren und auf dem Papier geeignet vorbehandelte Proteine, bes. bei streifenförmigem Auftragen der Substanzen^{1, 2)}. Wie nun gefunden wurde, sind auch die Kupferkomplex-bildenden Oxycarbonsäuren nach dieser Methode quantitativ zu bestimmen.

Um die durch die Kupfer-Retention entstandenen Kurven auswerten zu können, muß die Kupfer-Menge bekannt sein, welche pro Mol der verschiedenen Säuren unter den Bedingungen der Analyse verbraucht wird. Wir haben uns vorerst mit der Trennung der Oxydicarbonsäuren Äpfelsäure, Citronensäure, Citramalsäure und Weinsäure beschäftigt und retentiometrisch³⁾

*) IV. Mitteilung s. ²⁾.

¹⁾ Th. Wieland u. L. Wirth, diese Ztschr. 62, 473 [1950].

²⁾ Th. Wieland u. L. Wirth, ebenda 63, 171 [1951].

³⁾ Th. Wieland u. E. Fischer, Naturwiss. 35, 29 [1948].

deren Kupfer-Bindungsvermögen am kreisförmigen Tropfen ermittelt. Dabei ergab sich, daß von Äpfel-, Citronen- und Citramalsäure gleichviele Äquivalente an Cu^{2+} (wahrscheinlich 1 Cu^{2+} pro Mol) gebunden werden, von Weinsäure hingegen die doppelte Menge. Die zum Vergleich herangezogene Phosphorsäure verbraucht ebenfalls 1 Cu^{2+} pro Mol.

Für die papierchromatographische Trennung der genannten Säuren wurden mehrere Lösungsmittelgemische herangezogen. In Tabelle 1 sind die ermittelten R_F -Werte zusammengestellt.

Säure	Phenol	R _F -Wert in:									
		n-Butanol- Eisessig- Wasser	n-Butanol- Eisessig- Wasser	Prop.-A.-W.							
		4	1	5	2	1	1	6	3	1	
Weinsäure	0.22		0.11		0.35			0.39			
Citronensäure	0.29		0.13		0.43			0.25			
Äpfelsäure	0.39		0.23		0.46			0.43			
Citramalsäure	0.65		0.32		0.57			0.50			

Tabelle 1

Die schärfste Trennung wurde mit der von *Hanes und Isherwood*⁴⁾ für organische Phosphorsäureester angegebenen Propanol-Ammoniak-Mischung (Spalte 5 in Tab. 1) erreicht. Die R_F-Werte und der Trennerfolg sind bei Verwendung dieses Gemisches stark vom Sättigungsgrad der Atmosphäre in der Chromatographierkammer mit Ammoniak abhängig. Es hat sich als günstig erwiesen, auf dem Boden der Kammer mehrere Schalen mit konzentriertem Ammoniak aufzustellen. Dann ist es gleichgültig, mit welchem p_H die wäßrige Lösung des Gemisches auf das Papier gebracht wird. Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung haben wir die Retentionsanalyse nach streifenförmiger Applikation (0,05–0,1 cm³ Lösung) herangezogen. Die Papierstreifen wurden nach der Chromatographie einige Stunden an der Luft trocknen gelassen und dann retentiometrisch ausgewertet. Günstig ist es dabei, die Streifen vor der Retentiometrie ca. 1 h in einer Atmosphäre des dabei verwendeten Lösungsmittels aufzubewahren. Für ein Gemisch, das m/40 an Citronensäure, Äpfel- und Citramalsäure und m/80 an Weinsäure war, erhielten wir dann z. B. ein Retentiogramm, das in Bild 1 wiedergegeben ist. Die durch Verzerrung erhaltenen Konzentrationskurven sind in beschriebener Weise¹⁾ darüber gezeichnet, woraus man die zu erwartende Flächenübereinstimmung ersehen kann.

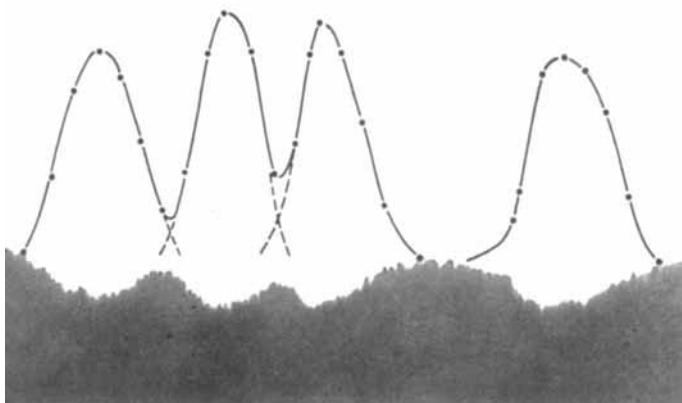


Bild 1
Retentiographie mit Konzentrationskurven eines Papierchromatogramms von (v. l. n. r.) Citramalsäure, Äpfelsäure, Weinsäure und Citronensäure
Berechnetes Verhältnis der Flächen 1:1:1:1, gef. 0,96:1:0,96:1,04

Es gelingt so, noch in Lösungen, die etwa 0,1% an jeder Komponente enthalten (50–100 γ Oxsäure) eine Trennung und quantitative Bestimmung mit einer Genauigkeit von ± 10% durchzuführen. Um zu absoluten Zahlenwerten zu gelangen, kann man vor der Trennung eine abgewogene Menge einer Substanz mit definiertem Kupfer-Bindungsvermögen, z. B. Phosphorsäure, den abgemessenen Analysenproben zusetzen. Phosphorsäure bleibt im beschriebenen Chromatogramm nahe an der Ausgangsstelle zurück. (R_F ~ 0,17). Der Vergleich mit der Konzentrationsfläche ergibt dann die Absolutwerte an den gesuchten Stoffen. Allerdings darf die Menge an Phosphorsäure nicht beliebig groß gewählt werden. Es zeigte sich nämlich, daß bei einer molaren Phosphatkonzentration, die mehr als doppelt so hoch wie die der Citronensäure war, diese nicht mehr mit dem ursprünglichen R_F wanderte.

Auch die Kupferkomplexe der genannten Säuren lassen sich papierchromatographisch trennen. Bringt man die mit einem kleinen Überschuß an Kupferacetat-Lösung versetzten, etwa

⁴⁾ Nature [London] 164, 1107 [1949].

m/100 wäßrigen neutralen Lösungen auf einen Filtrerpapierbogen und chromatographiert mit einem Gemisch von n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5 Vol.), so beobachtet man nach Besprühen des getrockneten Chromatogramms mit Rubeanwasserstoff-Lösung definierte, dunkelgrau gefärbte kupfer-haltige Flecken, welche die Kupfer-Komplexe der Oxycarbonsäure darstellen. Sie wandern in derselben Reihenfolge wie die freien Verbindungen. Weit darüber befinden sich die Flecken des überschüssigen oder durch geringfügige Zersetzung herrührenden Flecken des Kupferacetats. Leider zeigte sich aber, daß beim Chromatographieren der Kupfersalzgemische keine ganz scharfen Trennungen zu erzielen sind, was mit der Bildung gemischter Kupfer-Komplexe zusammenhängen dürfte.

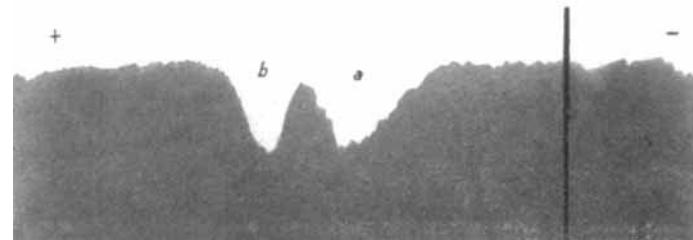


Bild 2
Ionopherogramm von Citrat (a) und Tartrat (b)

Mit etwa 0,1 proz. Lösungen an Analysensubstanz kommt man auch bei der Papierionophorese⁵⁾ aus, die wir ebenfalls untersucht haben. In m/50 Acetatpuffer vom p_H 7 gelingt bei 100 V Spannung in einer Stunde die Abtrennung des Citrats von den anderen, da die größeren Moleküle der Citronensäure einen erheblich kürzeren Weg zur Anode zurückgelegt haben als die anderen. Auch hier läßt sich die Position der getrennten Ionen durch die Lücken bei der Retentionsanalyse gut feststellen. In Bild 2 sieht man das Pherogramm einer neutralen Lösung, die ca. 0,2% Citrat (a) und 0,1% Tartrat (b) enthielt, als Streifen beim senkrechten Strich aufgebracht und im elektrischen Feld gewandert. Die Versuche zur quantitativen Auswertung der dargestellten Lücken haben ergeben, daß das Kupfer-Bindungsvermögen der Oxycarbonsäuren in Gegenwart des im Streifen enthaltenen Acetatpuffers ein anderes ist als in dessen Abwesenheit. Hier werden von sämtlichen untersuchten Verbindungen gleichviele äquivalente Kupfer pro Anion festgehalten.

Beschreibung einer Anordnung für absteigende Papierchromatographie⁶⁾

Bei der vorstehenden und vielen anderen papierchromatographischen Untersuchungen bewährte sich eine Kammer aus speziallackiertem Holz, deren Seitenwände lösungsmittelfest verglast sind, und wie sie auch von vielen anderen Autoren benutzt wird. Da sich einige Abweichungen in der Konstruktion als Verbesserungen herausgestellt haben, seien die Hauptmerkmale kurz beschrieben:

Der in 2 Scharniere bewegliche Deckel ist mit einem Gummistreifen gegen das Gehäuse abgedichtet und trägt als obere Wand eine Glasplatte mit 3 auf der kurzen Mittelachse angeordneten 15 mm starken Bohrungen. Diese sind über den 3 Trögen so angeordnet, daß man bei geschlossenem Deckel diese mit Lösungsmittel beschicken kann. Es hat sich nämlich gezeigt, daß die Papierchromatographie in vielen Fällen zu besseren Trennungen führt, wenn die Papierbogen vorher einige Stunden in der mit dem Dampf des Lösungsmittels gesättigten Atmosphäre hängen. Zur schnellen und vollständigen Sättigung des Innenraumes hat man an einer der schmalen Wände möglichst tief unten einen Tubus angebracht, durch den Luft eingeblasen werden kann, die durch Perlen durch das verwendete Lösungsmittel mit dessen Dämpfen gesättigt ist. Außerdem befinden sich Gefäße, die mit ihm gefüllt sind, auf dem Boden der Kammer. Die drei zur Aufnahme des Lösungsmittels dienenden Tröge bestehen aus emalliertem Eisenblech und haben die Form einer V-förmigen Rinne, deren Bodenwinkel 90° beträgt. An den 5 cm breiten ebenen Wänden haftet ein 4–5 cm parallel zum oberen Rand gefalteter großer Papierbogen durch Adhäsion des Falzes im Lösungsmittel enthaltenden Trog, wenn man ihn durch Entlangstreichen mit einem Glasstab luftblasenfrei anlegt. Füllt man das Lösungsmittel erst nachträglich ein, so ist es gut, den Falz durch Auflegen eines dicken Glasstabs zu beschweren.

Eintrag am 23. Februar 1951

[A 343]

⁵⁾ Das Gerät ist durch die Fa. Ludwig Hormuth, Inh. W. E. Vetter, Heidelberg, zu beziehen.