

Over de biologische proef van « Bayer » 205 ⁽¹⁾ of Germanine en gelijksoortige produkten : 309 « Fourneau » of Moranyl en Belganyl

DOOR

F. VAN DEN BRANDEN

Tot nog toe bestaat er voor de proef van « Bayer » 205 geen internationaal biologisch test, zooals er een bestaat voor de arseenhoudende stoffen, namelijk voor Neosalvarsan, Acetylsan, Sulfarsenol, Stovarsol, Tryparsamide, enz. De eenige inlichtingen die wij bezitten aangaande de proef van « Bayer » 205, zijn uit onuitgegeven documenten ontleend.

Launoy (2) heeft volgende proeven voorgesteld :

1° Een giftigheidsproef op 4 witte muizen, bedragende een aderinspuiting van 1 ctgr. medicijn per 20 gr. muis (oplossing van 1 t. h. in physiologisch water). Van de 4 muizen moeten er na 6 dagen 3 overleven.

2° Een therapeutische proef op 4 witte muizen, bedragende een aderinspuiting van *Trypanosoma « brucei »*, gevolgd, na 24 uur ('t is te zeggen zoohaast de trypanosomen in 't bloed te voorschijn komen), door een aderinspuiting van 0.00006 gr. « Bayer » 205 per 20 gr. muis. De dieren moeten 10 dagen lang gesteriliseerd blijven, 't is te zeggen geen trypanosomen in den peripherischen bloedsomloop vertoonen.

(1) « Bayer » 205 : symetrisch ureum van metaminobenzoyl-metaminoparamethylbenzol-1 naphthyl-amino-4-6-8 sodium trisulfaat.

(2) De proeven van Launoy werden uitgevoerd met 309 « Fourneau » of Moranyl.

De aanwijzingen van het in den handel verkrijgbaar « Bayer » 205 maken geen gewag van een giftigheidsproef. Voor de therapeutische proef, uitgevoerd in de chimio-therapeutische laboratorien der Bayer Farbenindustrie I. G., zijn de opgelegde voorwaarden de volgende: vooraleer voor den handel goedgekeurd, moet elk gefabriceerde deel « Bayer » 205 biologisch zoo geschikt bevonden zijn, dat 0.1 mgr. product een therapeutische eenheid bezit, 't is te zeggen de passende kracht om een muis van 20 gr. te genezen, die 24 uur vooraf met een laboratorium stam van *Trypanosoma « brucei »* besmet werd en reeds trypanosomen in het bloed vertoont.

Naderhand heeft de firma Bayer ons aanvullende inlichtingen doen geworden, aangaande de theurapeutische proef uitgevoerd op door Dr Prowazek's Nagana besmette muizen. De besmetting wordt teweeg gebracht door onderhuidsche inspuiting van trypanosomen bevattend bloed. 's Anderendaags wordt het product in verscheidene oplossingen, tegen 1 k. c. per 20 gr. muis, tegelijker tijd aan het noodige aantal geïnfecteerde proefdieren onder de huid ingespoten. Niet behandelde dieren, alsmede dieren die onwerkzame oplossingen gekregen hebben, sterven den derden of den vierden dag na de besmetting; terwijl de muizen die een werkzame inspuiting bekomen hebben, genezen of, ten minste, eenige dagen of zelfs eenige maanden blijven leven. Men acht de werking van het beproefde product als voldoende, wanneer ten minste de helft van het aantal besmette dieren 4 weken na de behandeling een negatieven uitslag geven met oplossingen van 1 : 6,000, 1 : 8,000, 1 : 10,000.

Persoonlijke navorschingen.

A. *Giftigheidsproef.* — Om zooveel mogelijk de bij alle biologische doseeringen onvermijdelijke onjuistheden te ondervangen, die meestal toe te schrijven zijn aan de individueele gevoeligheid der proefdieren, hebben wij de giftigheidsproeven uitgevoerd op 8 witte muizen in plaats van op 4, zooals door Launoy aangeprezen.

De eerste proefnemingen werden met Germanine, Moranyl en Belganyl uitgevoerd. Deze producten werden onder de huid ingespoten, tegen 1 ctgr. per 20 gram muis, zonder dat wij met het een noch met het ander een verschil van gevoeligheid bij de muizen hebben kunnen waarnemen.

Om zoo nauw mogelijk bij de giftigheidsgrens te komen, hebben wij dan de drie producten aan 6 partijen van elk 8 muizen ingespoten tegen 1.5 ctgr., 2 ctgr. en 3 ctgr. per 20 gr. dier. Met de twee eerste dosissen zijn de ingespoten dieren gedurende 20 dagen in leven gebleven. Met 3 ctgr. zijn er onregelmatigheden ontstaan, zonder twijfel teweeg gebracht door de individuele sensibiliteit der muizen tegenover het geneesmiddel.

Wij kunnen dus uit deze giftigheidsproeven besluiten dat onderhuidsche inspuitingen van 1.5 en 2 ctgr. « Bayer » 205 en gelijksoortige producten volkomen verdraagbaar zijn door witte muizen van 20 gr.

B. *Therapeutische proeven.* — Wij hebben witte muizen besmet met een stam *Trypanosoma « brucei »* die wij, en 1928, in Neder Congo afgezonderd hebben en, sedert toen, in het Instituut voor Tropische Geneeskunde « Prins Leopold », te Antwerpen, bewaard.

In 't algemeen vertoonen de dieren trypanosomen in den peripherischen bloedsomloop 24 uren na de besmetting. De evolutie duurt van 4 tot 5 dagen. Volgens de methode van Launoy hebben wij drie reeksen van 4 muizen met 0.00006 gr. Germanine per 20 gr. muis en drie andere reeksen van 4 muizen met dezelfde dosis Belganyl ingespoten. Beide producten waren in 1 k. c. physiologisch water verdund. Alle muizen bedroegen zich bijna op dezelfde wijze, of met Germanine of met Belganyl behandeld, nochtans met een licht voordeel voor Germanine in de eerste proef.

R. Pottier en Mej. S. Lewis, van de Union Chimique Belge, hebben insgelijks therapeutische proeven gedaan op witte muizen besmet met onze congoleesche stam van *Trypanosoma « brucei »*. Zij hebben Germanine en Belganyl in verhouding

van 0.00005 gr., 0.00006 gr., 0.00008 gr. en 0.1 mgr. per 20 gr. muis gebruikt. De uitslagen dezer proeven bewezen dat Germanine en Belganyl een vergelijkbare werking schijnen te hebben op de besmette muizen.

Een andere reeks vergelijkende proeven omtrent de werking van beide producten, hebben wij uitgevoerd met 0.1 mgr. product per 20 gr. muis. Zooals vroeger opgemerkt, moeten, volgens de aanwijzingen der Firma Bayer, de witte muizen volkomen genezen met een dosis van 0.1 mgr. « Bayer » 205, ingespoten 24 uren na de besmetting met *Trypanosoma « brucei »*, stam Prowazek.

Verscheidene partijen van elk 4 witte muizen van 20 gr. werden aan de behandeling onderworpen met Germanine en Belganyl en de therapeutische uitslagen zijn vergelijkbaar geweest voor de twee producten. Wij moeten echter opmerken dat wij de behandelde dieren niet volkomen genezen hebben, zooals dit had moeten gebeuren volgens bovenvermelde aanwijzingen. Wellicht is deze mislukking toe te schrijven aan het gebruik van een stam trypanosomen verschillend van die van Dr Prowazek. Wij herhalen dat de firma Bayer in latere inlichtingen steeds nog aanduidt dat de met een werkzaam product behandelde dieren moeten genezen ofwel verschillende dagen of verschillende maanden overleven.

*
* *

Met het oog op de verschillende individuele receptiviteit der enkele proefdieren tegenover de medicijn, hebben wij therapeutische proeven uitgevoerd op 11 reeksen van 8 muizen in de plaats van 4, ten einde gebeurlijke missingen in de interpretatie te voorkomen.

Drie producten werden vergelijkend beproefd: Bayer 205 (Germanine), Belganyl en 309 Fourneau (Moranyl).

Uit onze gezamenlijke therapeutische uitslagen blijkt dat bij muizen, besmet met onze congoleesche stam *Trypanosoma « brucei »* en dan behandeld met 0.1 mgr. product per 20 gr.

muis, de drie medicijnen een zeer vergelijkbare werking vertoond hebben.

Om juist overeenkomende uitslagen te bekomen in de biologische laboratoriums waar men zich bezig houdt met het onderzoek van Germanine en soortgelijke producten, zou voor de proefnemingen steeds dezelfde stam *Trypanosoma « brucei »* moeten gebruikt worden; want er bestaat tusschen verschillende stammen trypanosomen een zeer merkbaar verschil van toxiciteit voor de proefdieren, dat, onafhankelijk der individuele sensibiliteit, de theurapeutische uitslagen kan beïnvloeden. Anderzijds, vermits wij in staat moeten zijn aan de aanvragen naar biologische onderzoeken gevolg te kunnen geven, stellen wij volgende voorloopige regel voor, in afwachting van een internationale proef. Laat ons vooreerst zeggen dat men, ons inziens, niet te streng moet zijn voor de giftigheids- en therapeutische proeven en dat een zekere elasticiteit voor het onderzoek moet toegelaten worden. In de praktijk mag de contrôle echter niet meer dan 20 dagen duren.

Het onderzoek dat wij aanraden bedraagt :

- 1) een giftigheidsproef en
- 2) een therapeutische proef.

Giftigheidsproef.

Acht witte muizen worden onderhuids ingespoten met 1.5 ctgr. product per 20 gr. muis, verdund in 1 k. c. physiologisch water. Na 15 dagen, moeten 6 van de 8 dieren overleven, in blijkbaar goede gezondheid.

Therapeutische proef.

Acht witte muizen van 20 gr., besmet door de congoleesche stam *Trypanosoma « brucei »* worden onderhuids ingespoten met 0.1 mgr. product, verdund in 1 k. c. physiologisch water, 24 of 36 uur na de besmetting, volgens dat de trypanosomen vroeger of later in den peripherischen bloedsomloop te voorschijn komen.

Na 20 dagen moeten 6 van de 8 muizen gesteriliseerd zijn, 't is te zeggen geen trypanosomen meer in den bloedsomloop vertoonen.

RESUME.

L'auteur fait remarquer qu'il n'y a pas, à l'heure actuelle, de test international pour le contrôle biologique du « Bayer » 205, tel qu'il en existe un pour les médicaments arsénicaux : Neosalvarsan, Acetylarsan, Sulfarsénol. Tryparsamide, etc.

Il signale que les renseignements au sujet du contrôle du « Bayer » 205 existent dans des documents inédits et il propose d'admettre provisoirement un contrôle biologique, consistant en un essai de toxicité et en un essai thérapeutique. Il base sa proposition sur les résultats d'une série d'expériences qu'il a effectuées sur souris blanches.

Essai de toxicité.

Huit souris blanches de 20 gr. reçoivent chacune, en injection sous-cutanée, 1.5 ctgr. de produit, dilué dans 1 cc. d'eau physiologique.

Après 15 jours, 6 des 8 animaux doivent survivre, apparemment en bonne santé.

Essai thérapeutique.

Huit souris blanches de 20 gr., infectées de *Trypanosoma « brucei »* souche Congo, reçoivent chacune, par voie sous-cutanée, 0.1 mgr. du produit, dilué dans 1 cc. d'eau physiologique. L'injection a lieu 24 ou 36 heures après l'inoculation infectieuse, selon que les trypanosomes apparaissent plus tôt ou plus tard dans la circulation sanguine périphérique.

Après 20 jours, 6 des 8 animaux doivent être stériles; c'est-à-dire qu'ils ne peuvent plus présenter de trypanosomes dans la circulation sanguine.
