

Über das Verhalten des Nitrobenzols und einiger anderer aromatischer Nitrokörper im Organismus.

Von

Dr. Erich Meyer.

(Aus der II. medizinischen Klinik zu München, Direktor Prof. Friedr. Müller.)

(Der Redaktion zugegangen am 2. Dezember 1905.)

Veranlassung zu der folgenden Untersuchung gab ein Fall von Nitrobenzolvergiftung, den wir an der II. medizinischen Klinik zu beobachten Gelegenheit hatten.

Die 23jährige Verkäuferin E. H. wurde am 15. Juni 1905, mittags 12 $\frac{1}{2}$ Uhr, von der Sanitätskolonne mit der Angabe, daß eine Vergiftung vorliege, ins Krankenhaus gebracht. Die Patientin bot einen höchst eigenartigen Anblick dar: Heftig gestikulierend und schreiend saß sie vollkommen blaß und hochgradig blau aussehend auf dem Stuhl. Die Blaufärbung war so intensiv, daß die Hautfarbe fast an Argyrie erinnerte; dabei bestand keine Venenerweiterung, also ein total anderes Bild, als man es bei Stauungscyanose zu sehen gewohnt ist. Der Atem roch so intensiv nach Bittermandelöl, daß man sofort an Nitrobenzol- oder Benzaldehydvergiftung denken mußte. Die Patientin, die bei völlig klarem Bewußtsein war, gab auch an, ungefähr einen Kinderlöffel Nitrobenzol um 10 Uhr vormittags zu sich genommen zu haben.

Eine sofort vorgenommene Magenspülung förderte neben Milch und Speiseresten einige Tropfen einer öligen, stark nach Nitrobenzol riechenden Flüssigkeit zutage.

Die chemische Untersuchung dieser Massen, Destillation in saurer Lösung mit Wasserdämpfen, wobei eine ölige stark riechende Flüssigkeit überging, Reduktion dieser mit Zink und Schwefelsäure zu Anilin sicherte die Diagnose. Anilin war in der Flüssigkeit vor der Reduktion nicht nachzuweisen.

Ein durch Einstich in die Fingerbeere entnommener Blutstropfen war von braun-roter Farbe; er erinnerte im Aussehen an Methämoglobin. Darauf wurde ein Aderlaß von 500 ccm aus einer Armvene gemacht und 2000 ccm physiologische Kochsalzlösung infundiert. Das Blut roch nach einigem Stehen deutlich nach Nitrobenzol.

Trotz wiederholter Untersuchung durch mehrere Beobachter konnte ein Methämoglobinstreifen spektroskopisch nicht gefunden werden. Es zeigte sich lediglich rechts anschließend an die Oxyhämoglobinstreifen eine leichte unscharfe Verdunkelung. Durch Schütteln mit Luft wurde die Farbe des Blutes nicht verändert.

Die körperliche Untersuchung der Patientin ergab, daß sie Gravida war. Die Pulsfrequenz stieg im Laufe des Nachmittags bis 126, die Atmung war anfangs stark beschleunigt, 50—60 in der Minute, die Hauttemperatur, die anfangs normal war, stieg gegen Abend auf 38°.

Gegen 5 Uhr nachmittags verfiel Patientin in einen narkoseartigen Schlaf, die Pupillen, die vorher gut reagiert hatten, wurden maximal erweitert und reaktionslos, die Sehnenreflexe schwer auslösbar.

Auf Inhalation von Sauerstoffgas und Injektionen von Coffein pur. besserte sich der Zustand, so daß Patientin in der Nacht wieder vollkommen zu Bewußtsein kam und später ruhig schlief.

Im weiteren Verlauf trat einige Male Erbrechen auf. Die Massen rochen noch nach Nitrobenzol, enthielten aber keine chemisch nachweisbaren Mengen mehr. Auch der Atem der Patientin roch noch 7 Tage lang nach diesem Körper.

Am 16. und 17. waren die Körpertemperaturen noch erhöht, am 16. um 38°, am 17. um 37,5°. In der Folgezeit war nur einmal, am 26. eine Steigerung auf 37,9° zu bemerken, im übrigen blieb die Temperatur bis zum Austritt am 10. VII. 05 normal.

Dem anämischen Aussehen entsprechend war der Blutbefund, anfangs 3880000 Erythrocyten, 65% Hämoglobin (nach Sahli); am 20. VI. war der Hämoglobingehalt auf 48%, die Zahl der roten Blutkörperchen auf 2500000 gesunken. Die Leukocyten waren vermehrt, anfangs 16000 später 12000. Auch kurz vor der Entlassung war der Blutbefund noch nicht wieder normal: Hämoglobin 54%, Erythrocyten 2180000, die Zahl der Leukocyten war normal 5200, bei der Entlassung enthielt das Blut 56% Hämoglobin, 2600000 Erythrocyten und 7450 Leukocyten im Kubikmillimeter.

Bemerkenswert war, daß niemals abnorme Formen der roten Blutkörperchen, keine kernhaltigen, keine punktierten Erythrocyten, oder polychromatophile Zellen zu sehen waren. Histologisch fand sich überhaupt kein Zeichen eines abnormen Blutzerfalles; dem entsprechend fehlte während der ganzen Beobachtungszeit eine Zunahme von Hämatoporphyrin, Urobilin, sowie ähnlichen Substanzen im Harn, nur einmal (am 17.) bestand eine leichte Vermehrung des Urobilinogens (nachgewiesen mittels der von O. Neubauer angegebenen Methode mit dem Ehrlich'schen Dimethyl-p-Amido-benzaldehyd-Reagens).

Bemerkenswert ist ferner, daß am 20., also zur Zeit, wo die Anämie ihren Höhepunkt erreicht hatte, eine deutliche Zunahme der Milzdämpfung (die vorher vollkommen normal sich verhielt) sicher nachzuweisen war.

Die Urinuntersuchung ergab zunächst, daß auch durch die Nieren Nitrobenzol ausgeschieden wurde. In der zuerst gelassenen Portion, die hell und von normaler Farbe war, ließ sich Nitrobenzol durch Destillation mit Wasserdämpfen in saurer Lösung nachweisen.

Der Urin gab ferner: mit Eisenchlorid intensive braunrote Färbung, er enthielt kein Eiweiß, reduzierte Kupfersulfat in alkalischer Lösung direkt nicht, wohl aber nach dem vorherigen Kochen mit konzentrierter Salzsäure. Die reduzierte Substanz gäerte nicht und drehte die Ebene des polarisierten Lichtes — $0,25^\circ$ nach links. Der Urin verhielt sich also in dieser Hinsicht, wie in dem von Mering¹⁾ erwähnten Falle.

Die Linksdrehung und Reduktion nach dem Kochen mit Salzsäure ist also auf die Anwesenheit von Glykuronsäure zu beziehen. Es war nun zunächst daran zu denken, daß der neben dem Nitrobenzol anwesende Körper, der mit Eisenchlorid die intensiv braunrote Färbung gab, vielleicht Anilin sein könnte, das durch Reduktion aus Nitrobenzol sich gebildet habe. Da aber Schmiedeberg²⁾ und Fr. Müller³⁾ es wahrscheinlich gemacht hatten, daß aus Anilin im Tierkörper p-Aminophenol werde, so wurde besonders auf diesen Körper gefahndet. Anilin wurde übrigens niemals im Urin gefunden. Die Untersuchung auf p-Aminophenol im Urin kann nach Fr. Müller durch die Indophenolreaktion geführt werden. Sie fiel in dem von Fr. Müller beschriebenen Fall von Anilinvergiftung positiv aus. Ebenso verhielt sich der Harn unserer Patientin. Die Reaktion kann im Harn ohne weiteres, schöner aber im alkalischen Ätherextrakt ausgeführt werden. Der Harn wird mit konzentrierter HCl, dann mit Phenol versetzt, mit Fe_2Cl_6 oxydiert und mit NH_3 alkalisch gemacht. Filtriert man den dabei sich bildenden roten Niederschlag ab, so färben sich Filter und Filtrat intensiv blau, bei Anwesenheit von nur wenig p-Aminophenol blaugrün.

¹⁾ v. Mering, Zentralblatt für die medicin. Wissenschaften 1875, S. 945.

²⁾ Schmiedeberg, Diese Zeitschrift. Bd. I, S. 266, u. Archiv f. exper. Pharmakologie u. Pathologie, Bd. VIII, S. 10.

³⁾ Fr. Müller, Deutsche medizinische Wochenschrift 1887, Vortrag gehalten in der Gesellschaft der Charitéärzte.

Ich habe die Reaktion mit käuflichem reinen p-Aminophenol (Bayer) auf ihre Empfindlichkeit geprüft; es zeigte sich, daß noch in einer Verdünnung von 1:1600000 p-Aminophenol leicht damit nachzuweisen ist. Als Aminokörper mußte sich nach dem Diazotieren mit α -Naphthol in ammoniakalischer Lösung ein Farbstoff bilden. Der Rückstand des alkalischen Ätherextraktes wurde im Reagenzglas mit verdünnter HCl aufgenommen, mit 2 Tropfen Natriumnitritlösung, wie sie zur Anstellung der Ehrlich'schen Diazoreaktion verwendet wird, diazotiert, mit alkoholischer α -Naphthollösung versetzt; auf Hinzufügen von Ammoniak bildete sich eine intensive schöne rote Farbe.

Durch die Indophenolreaktion ließ sich nachweisen, daß der mit ziemlicher Sicherheit als p-Aminophenol anzusehende Körper noch bis zum 26. VI., also noch 12 Tage lang, im Urin ausgeschieden wurde.

Um sicher zu sein, ob der Körper tatsächlich p-Aminophenol war, wurde versucht, ihn darzustellen.

Nach einigen Vorversuchen mit reinem p-Aminophenol erwiesen sich zwei Verfahren als geeignet: 1. Die Darstellung des Diacetylesters, 2. die des Dibenzolesters. Ersteres, Diacetylaminophenol,¹⁾ entsteht beim Erhitzen mit Essigsäureanhydrid und bildet weiße Blättchen, die bei 150 bis 151° scharf schmelzen.

Zur Darstellung aus dem Urin verfuhr ich folgendermaßen: Der mit HCl versetzte Urin wurde auf dem Wasserbade eingeeengt, mit Äther zur Entfernung etwa störender Säuren wiederholt ausgeschüttelt, mit Soda alkalisch gemacht und abermals wiederholt extrahiert. Das Extrakt wurde bei 40—50° abgedampft, der Rückstand mit Essigsäureanhydrid aufgenommen, eine Stunde auf dem Drahtnetz bei 140° am Rückflußkühler gekocht, das überschüssige Essigsäureanhydrid abdestilliert, der Rückstand mit Wasser und etwas Tierkohle versetzt, ausgekocht und filtriert. Das Filtrat erstarrte krystallinisch, es konnte durch Umkrystallisieren mittels Benzol gereinigt werden. Schmelzpunkt 150°.

Zur Darstellung der Benzoylverbindung, die ebenfalls

¹⁾ Beilstein, Bd. II, S. 719.

Ladenburg, Berichte der Deutsch. chem. Ges., Bd. IX, S. 1528.

von Ladenburg¹⁾ erhalten wurde, deren Darstellungsmethode aber nicht angegeben ist, konnte wegen der leichten Zersetzlichkeit des p-Aminophenols in alkalischer Lösung nicht die gewöhnliche Methode der Benzoylierung benutzt werden. Die Dibenzoylverbindung schmilzt nach Ladenburg bei 231°.

Zur Benzoylierung in der Kälte eignet sich²⁾ die Pyridinmethode. Sie wurde von mir so angewendet, daß der Rückstand des alkalischen Ätherextraktes mit viel Pyridin aufgenommen und unter ständiger Kühlung Benzoylchlorid eingetragen wurde. Dabei trat, wie Lassar Cohn angibt, Rötung und Abscheidung von salzsaurem Pyridin ein. Nach 6 Uhr wurde das Reaktionsgemisch in viel kalte, verdünnte Schwefelsäure getropft. Es schied sich bald eine braune krystallinische Masse aus. Aus dieser wurde die anwesende Benzoesäure durch Äther extrahiert, der Rückstand wiederholt aus heißem Chloroform umkrystallisiert. Ich erhielt hierbei schließlich einen schön krystallisierten, etwas gefärbten Körper, der bei 230° scharf schmolz.

Das aus dem Urin dargestellte Diacetyl und Dibenzoylprodukt stimmte in allen Eigenschaften, Löslichkeit etc., genau mit den entsprechenden Produkten aus p-Aminophenol überein, die ich zur Kontrolle hergestellt habe.

Die Gesamtmenge des ausgeschiedenen p-Aminophenols ist schwer zu schätzen, da einmal nicht die gesamte Urinmenge verarbeitet worden, zweitens anfangs durch Fehler einiges verloren gegangen war.

Nachdem erwiesen war, daß bei unserer Patientin neben Nitrobenzol zu einem beträchtlichen Teil p-Aminophenol vom Körper ausgeschieden worden war, überzeugte ich mich erstens, daß das käufliche unreine Nitrobenzol des Handels, das die Patientin wahrscheinlich genommen hatte, kein Anilin oder p-Aminophenol enthält, daß zweitens auch im Mageninhalt der Patientin keiner der beiden Körper enthalten war.

Immerhin war es wünschenswert, da Reduktionen der Nitrogruppe zur Aminogruppe im Tierkörper bisher nur spärlich bekannt sind, einige Kontrollversuche am Tier anzustellen.

¹⁾ Vergl. Beilstein, Bd. II, S. 719.

²⁾ Lassar Cohn, S. 223.

Ich gab Kaninchen 1. Nitrobenzol, 2. p-Nitrophenol, 3. Ortho-Nitrophenol, 4. Meta-Nitrophenol.

Nitrobenzol.

Nach Gaben von 0,5—0,7 g Nitrobenzol per os (aus krystallisiertem Benzol Kahlbaum) zeigen die Tiere bereits nach 4 und 6 Stunden leichte Vergiftungserscheinungen. Sie liegen apathisch da, fressen nicht mehr recht, erholen sich aber, wenn keine weitere Vergiftung vorgenommen wird, bald wieder. Die Expirationsluft riecht stark nach Nitrobenzol, ebenso der Urin. Dieser gibt alle für p-Aminophenol charakteristischen Reaktionen, als welche ich im folgenden immer anstellte: 1. die Indophenolreaktion, 2. die Diazotierung und Kuppelung mit α -Naphtol, 3. die Rotbraunfärbung mit Eisenchlorid. Der Körper geht nicht aus saurer Lösung, wohl aber aus alkalischer in Äther.

Tötet man die Tiere auf der Höhe der Vergiftung, so riechen alle Organe stark nach Nitrobenzol. Das Blut ist dann braunrot und zeigt einen Absorptionsstreifen im Rot. Gelingt es, die auf der Höhe der Vergiftung sich befindenden Tiere wieder zum Leben zu bringen, so ist der Absorptionsstreifen im Rot nicht mehr nachweisbar.

Nach Abklingen der Vergiftung kann der Harn noch 12 bis 24 Stunden lang die Indophenolreaktion geben.

Ähnlich, aber schwerer gestaltet sich die Vergiftung nach Einführung von 0,5 g Nitrobenzol subkutan. 2 Tiere gingen nach 12—14 Stunden zugrunde. Auch hier war p-Aminophenol im Harn leicht nachweisbar.

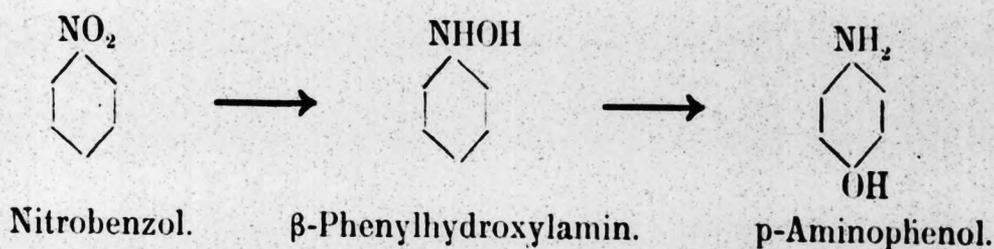
Dieser letztere Versuch wurde deshalb angestellt, weil an die Möglichkeit zu denken war, daß die Reduktion der Nitro- zur Aminogruppe vielleicht (wenn auch nicht wahrscheinlich) im Darm nicht im Innern des Körpers vor sich gegangen sein könnte. Der Versuch zeigt aber, daß es für unsere Frage gleichgültig ist, ob der Nitrokörper in den Darm gelangt ist oder nicht. Einen analogen Vorgang beobachtete R. Cohn,¹⁾

¹⁾ R. Cohn, Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 133.

indem er zeigte, daß beim Kaninchen m-Nitrobenzaldehyd in Acetylamidobenzoessäure übergeht, ebenso wenn der Körper per os als auch wenn er subkutan eingeführt wird.

Der Übergang vom Nitrobenzol in p-Aminophenol im Tierkörper ist a priori auf verschiedenen Wegen denkbar.

1. Extra corpus wird Nitrobenzol bei der elektrolytischen Reduktion in saurer Lösung über Phenylhydroxylamin in p-Aminophenol übergeführt, indem zuerst Reduktion, dann Umlagerung stattfindet. Die Umlagerung von Phenylhydroxylamin in p-Aminophenol geht bereits beim Erwärmen mit verdünnten Mineral-säuren vor sich. Die Überführung ist durch folgende Formeln charakterisiert:



Daneben entstehen Azoxybenzol, Azobenzol und Hydrazobenzol.

2. Es wäre möglich, daß Nitrobenzol zuerst in Anilin, dieses dann durch Oxydation in Parastellung in p-Aminophenol übergeführt wurde.

3. Zuerst Oxydation in Parastellung zu p-Nitrophenol, dann Reduktion der NO_2 - zur NH_2 -Gruppe.

Alle drei Möglichkeiten sind der experimentellen Untersuchung zugänglich.

1. Verhalten des Phenylhydroxylamins im Tierkörper.

Hierüber liegt eine einzige Angabe Lewin's vor. Lewin¹⁾ fand im Harn eines Chemikers, der sich bei der Darstellung von Phenylhydroxylamin nach Wohl²⁾ vergiftet hatte, eine Reaktion, die er als charakteristisch für Azoxybenzol aus-

¹⁾ Lewin, Archiv für exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXXV, S. 401.

²⁾ Wohl, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXVII, S. 1432.

spricht. Die Reaktion ist folgende: Trocknung der Harne in der Wärme, Extraktion mit Petroläther, Abdampfen des Lösungsmittels, Reduktion mit Zinn und Salzsäure, Filtrieren, Zusatz von Chlorkalk. Dabei entsteht ein «orangefarbener, bei Mehrzusatz des Reagens rot werdender, nach Zusatz eines Überschusses sich aufhellender, resp. teilweise verschwindender Niederschlag». Bei Kaninchen, denen er Phenylhydroxylamin eingab, fand er dieselbe Reaktion, dagegen weder Anilin, noch Nitrobenzol, noch p-Aminophenol.

Ich habe mich nun zunächst davon überzeugt, daß die Chlorkalkreaktion Lewins auf Azoxybenzol charakteristisch ist.

Die Tierversuche nahm ich mit nach Wohl¹⁾ resp. Bamberger²⁾ selbst hergestelltem nitrobenzol- und azoxybenzol-freiem Phenylhydroxylamin³⁾ vor, nachdem sich gezeigt hatte, daß das Phenylhydroxylamin des Handels nicht rein (namentlich azoxybenzollhaltig) war. Der Schmelzpunkt des verwendeten Präparates lag bei 81°.

Ich vergiftete 4 Kaninchen mit mehrfachen Dosen von 0,01—0,02 g Phenylhydroxylamin per os. Die Tiere gingen dabei regelmäßig am 2. resp. 3. Tage zugrunde. Die Harne untersuchte ich teils nach der Angabe Lewins, teils in anderer Weise, da es mir darauf ankam, über die Anwesenheit oder das Fehlen an p-Aminophenol Aufschluß zu erhalten. Das Vorhandensein von Azoxybenzol kann ich bestätigen, doch ist die Reaktion bereits am 2. Tage nach Aussetzen der Vergiftung nicht mehr nachweisbar gewesen.

Auf p-Aminophenol suchte ich, indem ich nach Spaltung des Harns mit Säure zuerst mit Äther extrahierte, den Rückstand hiervon alkalisch machte, wieder mit Äther extrahierte, mit verdünnter Salzsäure aufnahm und die Indophenolreaktion anstellte. Diese fiel in allen Fällen sehr intensiv aus. Auch im nativen Harn war die Reaktion stets positiv.

¹⁾ Wohl, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXVII, S. 1432.

²⁾ Bamberger, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXVII, S. 1347 u. 1548.

³⁾ Das Präparat hält sich auch im Dunkeln nur kurze Zeit rein und muß daher immer wieder frisch hergestellt werden.

Daß die Reaktion auf die Anwesenheit von p-Aminophenol nicht auf eine etwaige Überführung ausgeschiedenen Phenylhydroxylamins bei der Behandlung in p-Aminophenol zu beziehen ist, geht daraus hervor, daß Phenylhydroxylamin in dem alkalischen Ätherauszug nicht nachweisbar war. Merkwürdigerweise läßt sich Phenylhydroxylamin bei saurer Reaktion aus Harn leicht ausschütteln. Es wäre durch sein intensives Reduktionsvermögen (Fehling, und ammoniakalischer AgNO_3 -Lösung schon in der Kälte!) sehr leicht nachweisbar gewesen.

Man könnte noch den Einwand erheben, daß zwar Phenylhydroxylamin ausgeschieden, sich aber beim Stehen des Harnes resp. in der Blase der Tiere in p-Aminophenol umgelagert habe. Daß dies nicht der Fall ist, zeigte ein Versuch, bei dem einige Körnchen Phenylhydroxylamin 8 Tage lang in verschlossenem Glas mit Harn in Berührung blieben, ohne daß diese Überführung stattfand.

Daß Lewin bei seinen Versuchen p-Aminophenol nicht fand, ist begreiflich, wenn man die Unempfindlichkeit der für p-Aminophenol ebenfalls charakteristischen Chlorkalkreaktion (Bildung von gelbem, krystallinischem Chinonchlorimid und die anfängliche Violettfärbung durch dasselbe Reagens) kennt. Übrigens fielen auch diese Proben in meinen Fällen im eingengten ätherischen Extrakt aus alkalischer Lösung positiv aus, nicht aber in den nativen Harnen, die Lewin, wie er angibt, mit negativem Resultat untersucht hat.

Wenn man also nicht die durch nichts gestützte Annahme machen will, daß sich etwa ein p-Diamin gebildet habe, so kann die Indophenolreaktion in unseren Fällen als Beweis für die Anwesenheit von p-Aminophenol gelten.

Da demnach Phenylhydroxylamin im Tierkörper zum Teil in p-Aminophenol übergeht, so ist der Weg vom Nitrobenzol über diese Substanz zu p-Aminophenol möglich.

2. Vom Anilin haben bereits Schmiedeberg und Fr. Müller gezeigt, daß es in p-Aminophenol übergeht. Ich kann diese Angabe mit einem positiven Versuch beim Kaninchen bestätigen.

3. p-Nitrophenol ist bisher nicht untersucht worden.

Nach Zufuhr von 0,5 g per os fanden sich alle für p-Aminophenol charakteristischen oben erwähnten Reaktionen im Harn, sowie im Rückstand des alkalischen Ätherauszuges. Auf der Höhe der Vergiftung zeigte das Blut der Tiere den gleichen Streifen im Rot, wie bei der Vergiftung mit Nitrobenzol. Nach 1,0 Nitrophenol trat Exitus ein. Ein Teil des p-Nitrophenols scheint unverändert ausgeschieden zu werden, wie folgende Reaktionen zeigten: Aus saurer Lösung ließ sich ein Körper ausschütteln, dessen Lösung direkt keine Indophenolreaktion gab, die aber nach Reduktion mit Zinkstaub und Salzsäure intensiv auftrat.

Nitrophenol wird hierbei in p-Aminophenol übergeführt.

Ferner gab der Rückstand des sauren Ätherextrates deutliche Millon'sche Reaktion, als Beweis für die freie Hydroxylgruppe in der Parastellung.

Also auch p-Nitrophenol geht zum Teil in p-Aminophenol über.

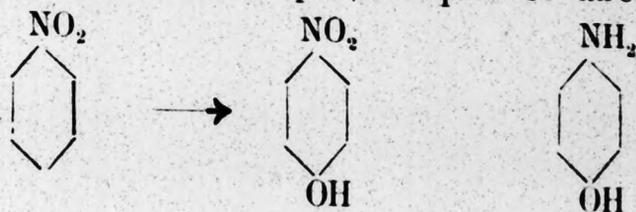
Wenn sich im Harn der Nitrobenzolvergiftung unseres Falles und ebenso in den Harnen der mit Nitrobenzol vergifteten Kaninchen eines der drei möglichen Zwischenkörper neben p-Aminophenol nachweisen ließ, so kann es wohl als sicher gelten, daß über diesen die Überführung von Nitrobenzol in p-Aminophenol stattfindet. — Anilin war in allen Fällen leicht auszuschließen.

Phenylhydroxylamin mußte nach meinen Vorversuchen im Auszug der sauren Lösung gesucht werden. Auf die Anwesenheit dieses Körpers kann geschlossen werden, wenn seine Lösung 1. reduziert, 2. mit Mineralsäuren gekocht in p-Aminophenol übergeht und dann für p-Aminophenol charakteristische Reaktionen gibt. Ich habe wiederholt vergeblich auf Phenylhydroxylamin gesucht.

Dagegen ließ sich regelmäßig p-Nitrophenol durch die zwei folgenden Reaktionen nachweisen: 1. Der Rückstand des sauren Ätherauszuges wurde mit verdünnter Mineralsäure (HCl oder H_2SO_4) aufgenommen und mittels der Indophenolreaktion geprüft (sie war immer negativ); dann wurde wie aber mit Zink- und Salzsäure reduziert und die Reaktion wiederholt. Zu meiner Überraschung fiel sie jetzt immer sehr intensiv dunkel-

blau aus. 2. Der Rückstand gab sehr intensive Millon'sche Reaktion.¹⁾

Nach dem gleichmäßigen Ausfall aller in dieser Richtung angestellten Versuche, sowie dem Resultat der Harnuntersuchung des Vergiftungsfalles, ist bewiesen, daß der Tierkörper Nitrobenzol über p-Nitrophenol in p-Aminophenol überführt.



Nachdem R. Cohn gezeigt hatte, daß beim Kaninchen m- und p-Nitrobenzaldehyd zum größten Teil zu m- und p-Aminobenzoessäure reduziert und diese dann mit dem Essigsäurerest im Organismus gepaart ausgeschieden werden, während die entsprechende Orthoverbindung zu 90% verbrannt wird, lag die Frage nahe, ob bei den Nitrophenolen ähnliche Verhältnisse vorliegen. Vom p-Nitrophenol ist oben gezeigt worden, daß es in p-Aminophenol zum Teil übergeht. m-Nitrophenol war bisher ununtersucht, während über das Verhalten des o-Nitrophenols die Angabe von Baumann und Herter vorliegt, daß es als solches ausgeschieden werde.²⁾

Metanitrophenol.

Zur Entscheidung der Frage, ob nach Verabreichung von Metanitrophenol Metaaminophenol auftritt, erwies sich die Reaktion des Metaaminophenols gegen Phtalsäureanhydrid als brauchbar. Nach einem Patent der Bad. Anilin- und Sodafabrik³⁾ kondensiert sich Phtalsäureanhydrid mit m-Aminophenol unter der Mitwirkung eines Kondensationsmittels wie konzentrierte

¹⁾ In einem Fall gelang es, durch Extraktion mit Äther, Abdampfen und abermalige Extraktion mit warmem Chloroform einen krystallinischen Rückstand zu bekommen, der die Reaktionen auf p-Nitrophenol intensiv gab; zur Reinigung und weiteren Identifizierung reichten die geringen Mengen nicht. Die Versuche wurden fortgeführt.

²⁾ Baumann u. Herter, Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 252.

³⁾ D. R. P. 44002, 13. Nov. 1887, zitiert nach Richard Meyer u. Sundmacher: Zur Kenntnis des m-Amidophenols, Berichte der Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXII, S. 2118.

Schwefelsäure zu einer Rhodaminbase. Die Entstehung dieses stark fluoreszierenden Körpers kann zum Nachweis vorhandenen *m*-Aminophenols dienen.

Nach den Angaben von R. Meyer¹⁾ läßt sich die Bildung dieser Base direkt im Reagenzglas bei folgender Modifikation der Probe für unsere Zwecke verfolgen: Wenn man etwas *m*-Aminophenol und Phtalsäureanhydrid in konzentrierter Schwefelsäure auf einer kleinen Flamme ca. 10 Minuten mit eingesenktem Thermometer auf 180—190° erhitzt, erkalten läßt, mit Wasser verdünnt, so entsteht eine stark grün fluoreszierende Lösung. Beim Schütteln mit Amylalkohol geht die entstandene Rhodaminbase mit zart roter Farbe und grüner Fluoreszenz in den Amylalkohol über. Schüttelt man die alkalische Lösung mit Äther, so löst sich etwas von der Base darin, jedoch viel weniger als im Amylalkohol. Die ätherische Lösung ist farb- und fluoreszenzlos. Dampft man den Äther ab, so bleibt ein zart roter Anhauch zurück, der sich in Amylalkohol mit der charakteristischen Farbe und Fluoreszenz löst.

Auf diese Weise läßt sich, wie ein Vorversuch ergab, zugesetztes *m*-Aminophenol auch im Harn nachweisen, wenn man ihn bei alkalischer Reaktion mit Äther extrahiert.

Einem Kaninchen wurden 0,5 g *m*-Nitrophenol mit der Schlundsonde eingegeben, der Urin wie in den übrigen Versuchen aus der Blase ausgepreßt. Er war normal gefärbt. Der Ätherextrakt aus saurer, aufgekochter Lösung färbte sich nach dem Abdampfen und Aufnehmen mit Wasser auf Zusatz von Alkali gelb, woraus hervorgeht, daß wohl ein Teil des Nitrokörpers als solcher in den Harn übergegangen war. Das Ausgeschüttelte wurde alkalisch gemacht, abermals mit Äther extrahiert, abgedampft, in konzentrierter Schwefelsäure aufgenommen und mit einer guten Messerspitze von Phtalsäureanhydrid nach der oben angegebenen Methode erwärmt. Nach dem Versetzen mit Wasser trat dann bereits deutlich die Rotfärbung und die grüne Fluoreszenz der Rhodaminbase auf. Die Rhodaminbase war in Amylalkohol leicht, in Äther schwerer löslich, Hieraus geht hervor, daß auch *m*-Nitrophenol

¹⁾ Berichte der Deutsch. chem. Ges., l. c.

vom Organismus des Kaninchens zum Teil zu m-Aminophenol reduziert wird.

Orthonitrophenol.

Von diesem Körper geben Baumann und Herter¹⁾ an, daß er als solcher aus dem Organismus ausgeschieden wurde. Sie fanden nach Zufuhr von 2 g beim Hund einen Teil im Urin wieder.

Zur Identifizierung etwa ausgeschiedenen Orthoaminophenols konnte die Eigenschaft des Orthoaminophenols verwendet werden, mit Säureestern Anhydroverbindungen zu bilden. So gibt Orthoaminophenol mit Acetessigsäureäthylester²⁾ Anhydroaminophenolacetessigester. Bisher ist es mir nicht gelungen, die Entstehung einer entsprechenden o-Aminoverbindung nach Zufuhr von o-Nitrophenol zu beweisen.

Da sowohl per os als subkutan zugefügtes Nitrobenzol im Organismus über p-Nitrophenol in p-Aminophenol umgewandelt wird, lag es nahe, diese Reaktion auch bei der Tätigkeit intracellulärer Fermente zu prüfen. Ich habe deshalb gemeinsam mit Herrn S. Weil Autolyseversuche nach Zusatz kleiner Mengen Nitrobenzol bei Leber und Milz vorgenommen. Nach den bisherigen Versuchen, über deren genauere Anordnung später berichtet werden soll, ist es sicher, daß auch hierbei Nitrobenzol in Para-Aminophenol umgewandelt wird.

¹⁾ l. c.

²⁾ Beilstein, Bd. II, S. 713.

München, den 28. November 1905.
