

Über den Mechanismus der Methämoglobinbildung durch Acetanilid und seine Abkömmlinge.

Von

Philipp Ellinger.

(Mit 7 Kurvenzeichnungen.)

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. September 1920.)

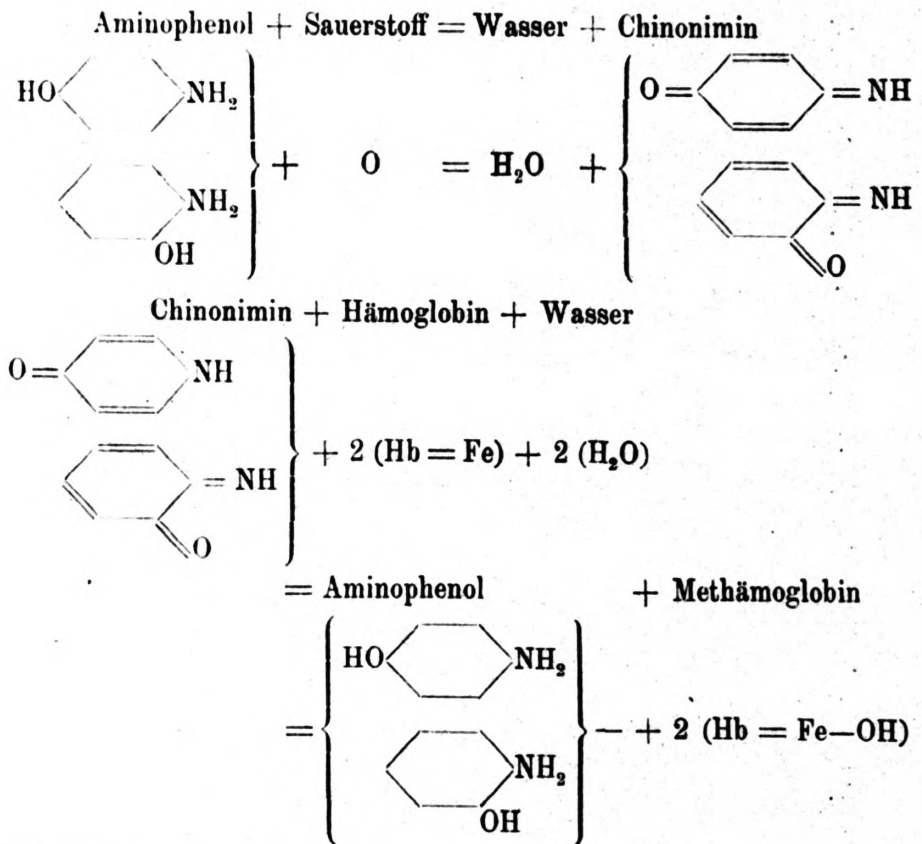
I. Einleitung.

Der Mechanismus der Methämoglobinbildung ist noch fast ganz ungeklärt. Als feststehend kann heute gelten, daß das Methämoglobin eine Oxydationsform des Hämoglobins darstellt, in der an ein Hämoglobinmolekül zwei Atome Sauerstoff gebunden sind, also ebensoviel wie im Oxyhämoglobin; der Unterschied besteht nur im Grade der Bindung. Während das Oxyhämoglobin den Sauerstoff nur locker angelagert hat, ist er beim Methämoglobin so fest gebunden, daß er nicht mehr ohne weiteres abgegeben werden kann und der Blutfarbstoff wenigstens für die Dauer seiner Umwandlung in Methämoglobin für die Atmung verloren ist.

Auch alle Erörterungen über die Methämoglobinbildung im Reagenzglas und im Organismus müssen von der Tatsache ausgehen, daß man es bei diesem Vorgange mit einer Oxydation des Blutfarbstoffes zu tun hat. Man pflegt daher seit Dittrich¹⁾ die Methämoglobinbildner unter diesem Gesichtspunkt in drei Gruppen zu trennen: in oxydierende, in reduzierende Substanzen und in Körper, die keine der genannten Eigenschaften besitzen. Die Einteilung berücksichtigt aber nur unmittelbar im Reagenzglas nachweisbare Eigenschaften der Methämoglobinbildner, während von diesen bedingte, sekundäre chemische Vorgänge das entscheidende Moment sein können. In diesem Sinne beschäftigen sich zwei Arbeiten der neueren Zeit mit dem Chemismus der Methämoglobinbildung.

¹⁾ Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 29, S. 247 (1892).

Heubner¹⁾ suchte die Wirkung der Nitro- und Aminophenole auf den Blutfarbstoff aufzuklären. Auf Grund eigener und fremder Versuche und auf Grund theoretischer Betrachtungen kommt er zum Schlusse, daß die Vertreter dieser Körpergruppen nicht unmittelbar mit dem Blutfarbstoff reagieren, sondern daß sie durch die Einwirkung des Gewebestoffwechsels erst eine Umwandlung erfahren in einen Körper, der als der eigentliche Methämoglobinbildner anzusehen ist. Aus der Beobachtung der Mengenverhältnisse schließt Heubner, daß es sich bei dieser Umwandlung um einen reversiblen Prozeß, bzw. um einen Pendelprozeß handle und daß dabei das Amidophenol oder das Anilinmolekül mit einer großen Anzahl von Hämoglobinmolekülen in Reaktion trete, also gewissermaßen katalytisch wirke. Er postuliert dabei die Entstehung von Chinonimin, läßt aber auch die Möglichkeit der intermediären Aryl-Hydroxylaminbildung offen. Den Mechanismus denkt er sich folgendermaßen:



¹⁾ Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 72, S. 241 (1913).

Er war aber nicht imstande, das geforderte Zwischenprodukt, das Chinonimin, zu fassen.

Lipschitz¹⁾ gelang es, den Chemismus der Methämoglobinbildung durch m-Dinitrophenol aufzuklären dadurch, daß er die Bildung von m-Nitrophenylhydroxylamin bei der Berührung von m-Dinitrophenol mit tierischem Gewebe nachwies und feststellen konnte, daß dieses Zwischenprodukt als eigentlicher Methämoglobinbildner anzusehen ist.

Die vorliegende Arbeit hat den Mechanismus der Methämoglobinbildung durch Anilinderivate zum Gegenstand. Sie ging von der Fragestellung aus, ob die genauere Feststellung der in verschiedenen Zeiten entstandenen Methämoglobinmenge Aufschluß über die Art des Bildungsvorganges geben kann. Dabei hat sich ein Vergleich des Acetanilids mit dem ihm nahestehenden Verwandten als fruchtbringend erwiesen. Die Untersuchung wurde durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Skita (Freiburg) ermöglicht, der die erforderlichen Präparate dem Institute zur Verfügung stellte.

II. Methodik.

Das Acetanilid wurde aus folgenden Gründen für die gestellte Aufgabe als geeignet befunden. Es ist ebenso wie seine Abkömmlinge wasserlöslich genug, um unmittelbar in die Blutbahn in ausreichender Menge eingeführt zu werden; seine Giftigkeit für das Blut und für den Tierkörper ist nicht so heftig, daß längerdauernde Versuche in vivo ausgeschlossen wären. Vor allem aber ist es möglich, sowohl in vitro als in vivo den Verlauf der Giftwirkung auf das Blut zeitlich zu verfolgen.

Zur Beobachtung des Wirkungsverlaufs sollte eine Methode ermittelt werden, die es ermöglichte, jederzeit bei kleinen Blutmengen das Vorhandensein des gebildeten Methämoglobins festzustellen. Die Spektrophotometrie kam aus zwei Gründen nicht in Frage. Einerseits ist es nach den Arbeiten von Butterfield²⁾ nicht sicher, ob die Ergebnisse nicht von der

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 109, S. 189 (1920).

²⁾ Diese Zeitschr. Bd. 62, S. 173 (1909).

individuellen Aperzeptionsfähigkeit des Untersuchers und dem jeweiligen Bau des Apparates abhängig sind. Die erste Frage scheint durch Letsche¹⁾ zugunsten der Methode geklärt, die letztere bleibt aber noch offen. Andererseits arbeitet die Spektrophotometrie mit hämolysiertem Blut und dabei ist eine verstärkte Einwirkung des Blutgiftes auf das vom Stroma befreite Hämoglobin wahrscheinlich und damit die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung des im unveränderten Blute gebildeten Methämoglobins ausgeschlossen.

Bei der Suche nach einer brauchbaren Methode zur quantitativen Bestimmung des gebildeten Methämoglobins benutzte ich, ähnlich wie schon Dreser²⁾, die Eigenschaft desselben, für die Atmung bzw. die Sauerstoffbindung unbrauchbar zu werden. Es muß die Atmungskapazität, d. h. Fähigkeit des Blutes pro Maßeinheit Sauerstoff locker zu binden, angeben, wieviel unverändertes Hämoglobin bzw. Oxyhämoglobin noch vorhanden ist. Das Verhältnis dieser Zahl zur Sauerstoffkapazität des unbehandelten Blutes des gleichen Tieres, bzw. dessen reziproker Wert gibt dann unmittelbar die prozentuale Menge des gebildeten Methämoglobins an unter der wohl erlaubten Voraussetzung, daß die Verminderung des Sauerstoffbindungsvermögens lediglich auf der Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin beruht. Die Bestimmung muß natürlich stets an arteriellem, d. h. maximal mit Sauerstoff gesättigtem Blut vorgenommen werden.

Eine weitere Möglichkeit der Methämoglobinbestimmung beruht auf der Feststellung der Atmungsbeeinträchtigung bei kernhaltigen roten Blutkörperchen. Hier war daran zu denken, daß die verwendeten Blutgifte neben der Methämoglobinbildung auch andere atmungshemmende Wirkungen etwa im Sinne der Narkotika ausüben könnten. Es wäre dann der Grad der Atmungsschädigung nur als mögliches Maximum der Methämoglobinwirkung anzusehen gewesen. Da aber für die untersuchten Körper auf beide Methoden quantitativ gleiche Werte gefunden wurden, so darf man wenigstens für die vorliegenden

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 67, S. 177 (1910).

²⁾ Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Supplementbd. 1908 S. 138.

Substanzen annehmen, daß die Atmungsbeeinträchtigung lediglich eine Folge der Methämoglobinbildung ist und daß auch die Beobachtung der Atmungsfähigkeit die quantitative Feststellung des Grades der Methämoglobinbildung gestattet.

Die Untersuchungen wurden, um weitere Fehlerquellen auszuschalten, stets an der gleichen Tierart vorgenommen, und zwar die Bestimmungen der Atmungskapazität an Katzenblut, das für Methämoglobinbildung besonders geeignet ist, die Veränderungen der Atmung an Gänseblutkörperchen. Die Veränderung der Atmungskapazität wurde *in vitro* und *in vivo* beobachtet. Die Reagenzglasversuche wurden mit gewaschenen Blutkörperchen, mit geschlagenem Blut, mit Hirudinblut, mit Citrat- und Oxalatblut angestellt, was stets steril aufgefangen war. Für die *in vivo*-Versuche wurde immer Blut aus der Arterie mit einem Körnchen Hirudin ungerinnbar gemacht und unverdünnt untersucht. Die Atmungsversuche mit Gänseblut wurden stets an sterilem, durch Schlagen mit runden Glasperlen defibriniertem Blut vorgenommen, um bei den zum Teil auf längere Zeit sich erstreckenden Beobachtungen durch die bakteriziden Eigenschaften des Serums störende Bakterienentwicklungen hintanzuhalten.

Die Bestimmung der Atmungskapazität erfolgte mittels der Ferricyanidmethode nach Haldane-Barcroft nach der Beschreibung von Fr. Müller in Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden Bd. 3, S. 685. Es wurden, wenn irgend möglich, von jeder Bestimmung zwei Kontrollanalysen gemacht und bei möglichst gleichmäßiger Temperatur gearbeitet. Schwankungen von 1° im Verlaufe vielständiger Versuche sind als Maximum anzusehen. Bei einiger Übung stimmen die Ergebnisse auf etwa 2% überein, größere Fehlschläge, wie sie bei Müller geschildert werden, wurden verhältnismäßig selten beobachtet und jeweils durch Untersuchung einer neuen Blutprobe richtiggestellt. Sehr wesentlich zur Vermeidung von Fehlern trägt ein außerordentlich sorgfältiges Hämolysieren des Blutes durch Schütteln mit Ammoniaklösung bei. Gegen die Anwendung dieser Methode zur Bestimmung der Atmungskapazität bei Vergiftung des Blutes mit Hämoglobin-

bildnern hat Dreser¹⁾ den Einwand erhoben, daß „das im Blutplasma gelöste methämoglobinbildende Agens an das durch das Lackfarbennachen ihm besonders leicht zugänglich gewordene Oxyhämoglobin herantritt und es in Methämoglobin umwandelt, so daß die nachherige Austreibung des Sauerstoffs aus dem noch übriggebliebenen Oxyhämoglobin durch Ferricyan zu kleine Sauerstoffwerte liefern muß“. Um diese Fehlerquelle zu vermeiden, hat Dreser an Stelle der handlichen Haldaneschen Methode eine weit umständlichere Methode ausgearbeitet, die auf der Verdrängung des Sauerstoffs durch Kohlenoxyd im Blute beruht. Der Einwand erscheint aber nicht stichhaltig. Die Hämolyse des Blutes erfolgt nämlich erst nach Abschluß der Gefäße, so daß der etwa durch die Einwirkung des Methämoglobinbildners auf das hämolysierte Blut freiwerdende Sauerstoff der Messung nicht entgeht. Die Eichung der Schüttelgefäße erfolgte in Verbindung mit den Manometern. Man stellt nach Temperatúrausgleich auf eine Marke ein, schließt das Manometer ab, vermindert durch Drehen der Schraube am Manometer das abgeschlossene Volum um den Raum a und liest den zu dieser Volumverminderung notwendigen Überdruck am offenen Manometerschenkel ab. Nach dem Gasgesetz ist dann $pv = p'(v-a)$, wenn p der ursprüngliche (Atmosphären-) Druck, p' der um den abgelesenen Überdruck vermehrte Atmosphärendruck, v das gesuchte Volumen ist. Man wiederholt diesen Vorgang, nachdem man (vorher im Wasserbad temperiertes) Wasser in abgemessener Menge m in das Schüttelgefäß gefüllt hat. Man erhält dann die Gleichung $p_1(v-m) = p'_1(v-m-a)$ und löst beide Gleichungen nach a auf:

$$a = v \frac{p' - p}{p'} = (v - m) \frac{p'_1 - p_1}{p'_1}$$

In dieser Gleichung die einzige Unbekannte v zu ermitteln:

$$v = m \cdot p' \frac{p'_1 - p_1}{p' (p'_1 - p_1) - p'_1 (p' - p)}$$

¹⁾ Archiv f. Experim. Pathol. u. Pharmakol., Supplementbd. 1908, S. 138.

Zur Kontrolle kann man eine weitere Bestimmung ausführen, nachdem man das Volum des Schüttelgefäßes durch Füllung um eine andere abgemessene Wassermenge m' vermindert hat; die Ergebnisse müssen dann übereinstimmen. Die Berechnung der Versuche wird nach den Angaben von Müller ausgeführt.

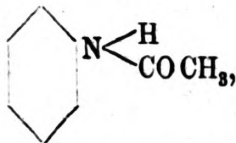
Die Untersuchung der Atmungsbeeinflussung erfolgte nach den von Siebeck in Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden Bd. 8, S. 33 dargestellten zweiten Methode zur Bestimmung der Oxydationsgeschwindigkeit. Diese Methode gewährt die Möglichkeit, jederzeit die Menge des verbrauchten Sauerstoffs zu bestimmen und sie mit den Mengen zu vergleichen, die von unbehandeltem Blut in der gleichen Zeit verbraucht werden. Bei allen Untersuchungen wurden mindestens zwei Parallelbestimmungen angesetzt, die auf etwa 2—3% übereinstimmten. Größere Schwankungen des Thermo-
barometers konnten durch Vermeidung von Schwankungen in der Wasserbadtemperatur bei konstantem Luftdruck meist verhütet werden. An Tagen mit großen Luftdruckschwankungen wurden die Ablesungen durch starke Ausschläge des Thermo-
barometers wesentlich beeinträchtigt. Die Aichung der Oxy-
dationsgefäße erfolgte auf die gleiche Weise wie die der Schüttelgefäße bei der Ferricyanidmethode. Beeinträchtigung der Versuche durch Bakterienentwicklung konnte durch steriles Vorgehen und Verwendung von defibriniertem Blut vermieden werden. Die Versuche erstreckten sich zum Teil über 24 Stunden. Die Abwesenheit von Bakterien wurde stets durch mikro-
skopische Kontrolle nach beendeten Versuche festgestellt. Bei der Untersuchung der Atmung wurde mehrfach beobachtet, daß frischgeschlagenes Blut schlechter atmet als solches, das schon einige Stunden gestanden hat. Der Ursache dieser auffälligen Erscheinung soll nachgegangen werden. Um hieraus sich etwa ergebende Fehlerquellen auszuschalten, wurde von der Verwendung frischen Blutes abgesehen und nur solches benutzt, das am Abend vorher dem Tier entnommen, defibriniert und im Eisschrank aufbewahrt war. Die Berechnung der Versuche geschah nach den Angaben Siebecks nach der Formel:

Sauerstoffverbrauch = $\frac{pv}{(1 + \alpha t) 10000}$, worin v der Gasraum der Gefäße und p die abgelesene Druckabnahme, korrigiert um den Anschlag des Thermobarometers, bedeutet. Der Wert für die Änderung des Sauerstoffpartialdrucks kann vernachlässigt werden, da er seiner Größenordnung nach im Verhältnis zur Genauigkeit des Verfahrens nicht in Betracht kommt.

III. Versuche.

1. Versuche mit Acetanilid.

Wie schon oben angedeutet, wurden die Versuche im wesentlichen mit Acetanilid angestellt. Es besitzt die Formel



ist in kaltem Wasser schlecht (1:189), in warmem Wasser gut (1:18) löslich. Die Lösungen reagieren neutral.

a) In vitro

Versuch IV. 23. 6. 20.

(Gewaschene Blutkörperchen in Ringerlösung.) 8²⁵h. Katzenblut steril aus der Carotis entnommen, 15 Min. mit runden Glasperlen geschüttelt, 20 Min. zentrifugiert; die Blutkörperchen werden 3mal je 20 Min. mit Ringerlösung gewaschen und dann mit der dreifachen Menge Ringerlösung aufgeschwemmt. Je 10 ccm der Aufschwemmung werden gemischt um 11⁰⁵—11¹⁰h.

1. mit 10 ccm Ringerlösung,

2. mit 10 ccm 0,5%iger Acetanilidlösung in Ringerlösung, so daß auf den ccm Lösung 0,0185 Millimol Acetanilid kommen, und von 11¹⁵ — 11³⁰h. in der Schüttelmaschine geschüttelt.

1 Zeit nach dem Mischen	2 Atmungskapazität in % der Blutkörperchenaufschwemmung	3 Atmungskapazität in % der Aufschwemmung mit Acetanilid	4 Verhältnis von Spalte 3:2 in %
40 Min.	17,35	15,96	92,05
4 1/2 Std.	17,73	14,77	83,28
23 „	17,15	10,97	64,00
55 „	17,50	11,18	63,87

Versuch XV. 9. 7. 20.

(Defibriertes Blut.) 9³⁰h. Katzenblut steril aus der Arteria brachialis entnommen, 20 Min. mit runden Glasperlen geschlagen und koliert. Je 5 ccm werden gemischt um 10¹⁵h.

1. mit 5 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung,
2. mit 5 ccm 0,5%igem Acetanilid in 0,9%iger NaCl-Lösung (0,0185 Millimol in 1 ccm Mischung),
3. mit 5 ccm 0,05%igem Acetanilid in 0,9%iger NaCl-Lösung (0,00185 Millimol in 1 ccm Mischung)

und von 10³⁰—10³⁰h. in der Schüttelmaschine geschüttelt.

1 Zeit nach dem Mischen	2 Atmungskapazität in % des unbehandelten Blutes	3 Atmungskapazität in %		4 Verhältnis	
		a) d. 0,5%	b) d. 0,05%	3a:2 in %	3b:2 in %
35 Min.	17,54	17,57	17,57	100,2	100,2
8 Std.	17,54	17,38	17,57	99,08	100,2
24 „	17,15	12,34	14,34	72,20	83,60
48 „	17,35	11,78	11,71	67,94	67,50

Versuch VIII. 28. 6. 20.

(Oxalatblut.) 9²²h. Katzenblut steril aus der Carotis in 1 ccm 0,9%iger Natriumoxalatlösung aufgefangen. Je 3 ccm werden gemischt um 10⁵²h. mit

1. 3 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung,
2. 3 ccm 0,5%igem Acetanilid in 0,9%iger NaCl-Lösung (0,0185 Millimol in 1 ccm Mischung),
3. 3 ccm 0,05%igem Acetanilid in 0,9%iger NaCl-Lösung (0,00185 Millimol in 1 ccm Mischung)

und von 10⁵⁵—11⁰⁵h. in der Schüttelmaschine geschüttelt.

1 Zeit nach dem Mischen	2 Atmungskapazität in % des unbehandelten Blutes	3 Atmungskapazität in %		Verhältnis von	
		a) d. 0,5%	b) d. 0,05%	3a:2 in %	3b:2 in %
40 Min.	18,24	18,36	18,15	100,60	99,50
7 Std.	18,32	17,97	18,08	97,95	98,51
24 „	18,16	17,93	18,04	98,96	99,43

Versuch X. 1. 7. 20 (Citratblut).

9¹⁰ h. werden aus der Arteria femoralis 18 ccm Katzenblut steril entnommen und in 2 ccm 3%iger Natriumcitratlösung aufgefangen. Je 5 ccm werden gemischt um 9⁴⁰ h.

1. mit 5 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung,
2. mit 5 ccm 0,5%igem Acetanilid in 0,9%iger NaCl-Lösung (0,0185 Millimol in 1 ccm Mischung),
3. mit 5 ccm 0,05%igem Acetanilid in 0,9%iger NaCl-Lösung (0,00185 Millimol in 1 ccm Mischung)

und von 9⁵⁰—10⁰⁰ h. in der Schüttelmaschine geschüttelt.

1 Zeit nach dem Mischen	2 Atmungskap. in % des unbehandel- ten Blutes	3 Atmungskapazität in %		4 Verhältnis von	
		a) des 0,5%igen Acetanilidblutes	b) des 0,05%igen	3a : 2 in %	3b : 2 in %
1 Std.	15,78	15,90	15,79	100,70	100,00
8 ¹ / ₂ „	16,17	16,11	16,19	99,58	100,05
24 „	15,59	15,38	15,25	98,64	97,82
48 „	15,98	15,58	16,15	97,49	101,08

Die Lösungen wurden stets bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die vorliegenden Versuche zeigen, daß Acetanilid in vitro sowohl bei gewaschenen roten Blutkörperchen wie auch in defibriertem Blut Methämoglobin bildet. Diese Bildung erfolgt erst nach verhältnismäßig langer Zeit. In der Blutkörperchenaufschwemmung wird das Maximum nach 23 Stunden, in defibriertem Blut erst nach 48 Stunden erreicht. In beiden Fällen wird maximal etwa ein Drittel des Oxyhämoglobins in Methämoglobin umgewandelt. Dabei wird in Versuch XV der gleiche Effekt durch 0,00185 Millimol pro ccm wie mit der 10fachen Menge erzielt. In Oxalatblut und Citratblut erzeugt Acetanilid kein Methämoglobin. Auf dieses verschiedene Verhalten verschieden behandeltem Blut gegenüber sind vielleicht auch die abweichenden Angaben über die methämoglobinbildende Wirkung des Acetanilids in vitro zurückzuführen (Lépine¹), Hénoque²).

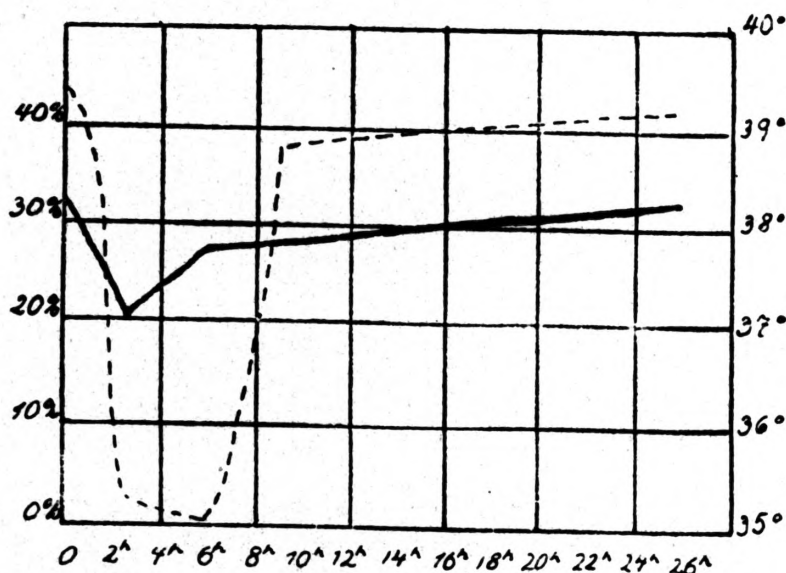
¹) Rev. de méd. S. 306 (1887), zit. n. Maly Bd. 17, S. 58 (1887).

²) Comt. rend. soc. biolog. S. 498 (1887), zit. n. Maly Bd. 17, S. 58 (1887).

b) In vivo.

Versuch VI. 25. 6. 20.

Katze, grau, ♀, 2130 g, 8⁵⁰ h. Rektaltemperatur 39,3°, 8⁵⁵ h. aufgespannt, in Carotis und Jugularis Kantülen eingeführt. Blutproben aus der Carotis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.



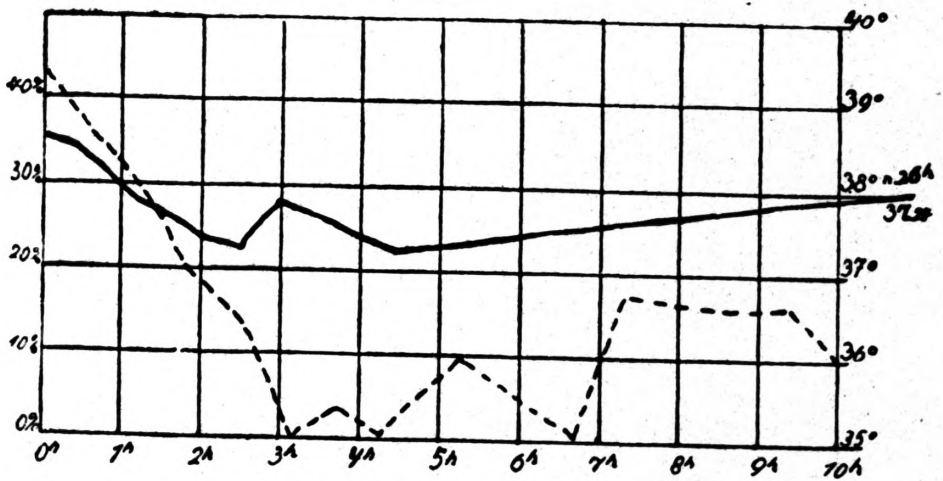
— Atmungskapazität. - - - - Rektaltemperatur.
Abszisse: Zeit in Stunden. Ordinate: O₂-Bindungsvermögen pro cem in %, bzw. °C.

Stundenzeit	Zeit nach der Acetanilid-Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektaltemp. in °C.	Bemerkungen
9 ³⁰ 9 ⁴⁰⁻⁵⁰	0 Min.	31,76	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
	—	—	—	—	0,1 g Acetanilid in 20 ccm 0,9% iger NaCl-Lösung in die Jugularis
10 ⁰⁰ 10 ⁴⁰	20 Min. 60 "	— —	— —	— 38,65	abgespannt
12 ⁰⁰	2 Std. 20 Min.	—	—	36,65	liegt matt da, schwache Cyanose; Tier aufgebunden
12 ⁰⁵	2 Std. 25 Min.	20,36	64,10	—	Blutentnahme, Farbe dunkelbraun
12 ¹⁰ 12 ⁴⁰	2 " 30 " 3 Std.	— —	— —	35,35 35,20	abgebunden
3 ⁰⁷ 3 ³⁷	5 Std. 30 Min. 6 Std.	— —	— —	35,10 35,0	Tier munter Cyanose schwach; Tier aufgebunden

Stundenzeit	Zeit nach der Acetanilid-Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektaltemp. in °C.	Bemerkungen
3 ⁴⁵	6 "	27,84	87,68	—	Blutentnahme, Farbe dunkelbraun; abgebunden
4 ⁴⁰	7 "	—	—	35,35	—
5 ³⁰	8 "	—	—	36,50	—
6 ³⁰	9 "	—	—	38,88	—
26. 6. 20.					
11 ¹⁵	25 Std. 30 Min.	—	—	39,2	Tier munter, frisst gut; abgebunden
11 ³⁰	26 Std.	32,64	100,87	—	Blutentnahme, Farbe hellrot; abgebunden.

Versuch XI. 2. 7. 20.

Katze, grau, ♀, 1840 g, 8³⁰ h. abgebunden auf Wärmekissen und im Ätherrausch Kanülen in Carotis und Jugularis eingelegt. Blutproben aus der Carotis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.



— Atmungskapazität. - - - - Rektaltemperatur.
 Abszisse: Zeit in Stunden. Ordinate: O₂-Bindungsvermögen pro ccm in %, bzw. °C.

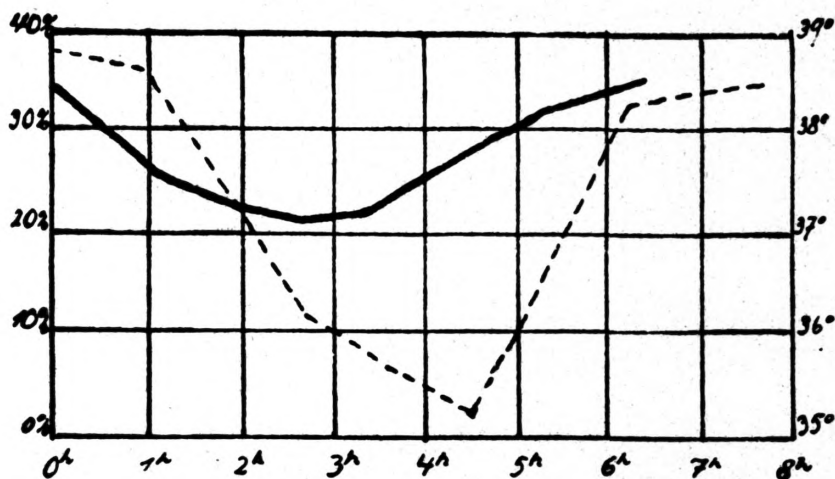
Stundenzeit	Zeit nach der Acetanilid-Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektaltemp. in °C.	Bemerkungen
8 ⁴⁵	0 Min.	35,86	100,00	—	Blutentnahme, hellrot
8 ⁴⁷	0 "	—	—	39,2	—

Stundenzeit	Zeit nach der Acetanilid-Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektaltemp. in ° C.	Bemerkungen
8 ⁵²	0 Min.	—	—	—	0,1 g Acetanilid in 20 ccm Ringerlösung, in Jugularis injiziert
9 ¹⁸	20 "	34,68	82,97	—	Blutentnahme, hellrot
9 ²⁸	30 "	—	—	38,6	—
9 ⁴⁸	50 "	—	—	38,3	—
9 ⁵⁸	1 Std.—Min.	29,68	82,97	—	Blutentnahme, deutl. braun
10 ¹⁸	1 " 20 "	—	—	37,8	—
10 ²⁸	1 " 30 "	26,91	75,05	—	Blutentnahme, stark braun; Gewebe bräunlich, starke Cyanose der Schnauze
10 ³⁸	1 " 50 "	—	—	37,3	—
10 ⁵⁸	2 " — "	23,09	64,40	—	Blutentnahme, dunkelbraun
11 ⁰⁸	2 " 10 "	—	—	36,75	—
11 ¹⁸	2 " 30 "	22,57	62,97	—	Blutentnahme, dunkelbraun
11 ³⁸	2 " 40 "	—	—	36,40	—
11 ⁵⁸	3 " — "	28,50	79,46	—	Blutentnahme, braun, aber schon heller
12 ⁰⁸	3 " 10 "	—	—	35,00	—
12 ²⁸	3 " 30 "	25,72	71,74	—	Blutentnahme, Farbe wie vorher
12 ³⁸	3 " 40 "	—	—	35,25	—
12 ⁵⁸	4 " — "	23,97	66,84	—	Blutentnahme, Farbe wie vorher
1 ⁰⁸	4 " 10 "	—	—	35,10	—
1 ²⁸	4 " 30 "	22,77	63,50	—	Blutentnahme, Farbe unverändert
1 ³⁸	4 " 40 "	—	—	35,50	Tier sehr schlapp, daher abgebunden
2 ¹⁵	5 " 15 "	—	—	36,0	—
2 ⁵⁸	6 " — "	23,63	65,88	—	Tier aufgebunden, Blutentnahme
3 ^{15—25}	6 " 30 "	—	—	—	40 ccm körperwarme 0,9% Kochsalzlösung in die Jugularis, dann abgebunden
3 ⁵⁸	6 Std. 45 Min	—	—	35,10	Liegt schlaff da, reagiert aber prompt auf Berührung
4 ¹⁸	7 " 15 "	—	—	36,70	sitzt aufrecht
5 ³⁰	8 " 30 "	—	—	36,60	—
6 ²⁰	9 " 30 "	—	—	36,60	Beschleunigte Atmung, 113 pro Min.

Stundenzeit	Zeit nach der Acetanilid-Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektaltemp. in ° C.	Bemerkungen
6 ⁴⁰	9 Std. 45 Min.	—	—	36,0	Atmung 110
10 ⁴⁵	13 „ 45 „	—	—	35,4	—
3. 7. 20. 9 ⁰⁵	24 „ — „	—	—	37,4	Atmung 32, sichtb. Schleimhäute, rosig; schlapp, richtet sich aber spontan auf
11 ⁰⁰	26 „ — „	37,24	104,10	—	Blutentnahme, Farbe normal
11 ¹⁰⁻²⁰	—	—	—	—	30 ccm 10%ige Traubenzuckerlösung in die Jugularis
11 ²⁵	—	—	—	35,7	—
4 ⁵⁰	32 „ — „	—	—	35,4	Tier sehr schlapp, verträgt jede Lage; Reflexerregbarkeit erhalten, Atmung 34, Urin frei von Blutfarbstoff
8 ⁰⁰	35 „ — „	—	—	—	Exitus; Blut hellrot; Urin: Urobilin + Biliburin —.

Versuch VII. 28. 6. 20.

Katze, grau, ♂, 1960 g. 9⁰⁰ h. aufgebunden auf Wärmekissen und im Ätherrausch Kanülen in Carotis und Jugularis eingeführt, Blutproben aus der Carotis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.



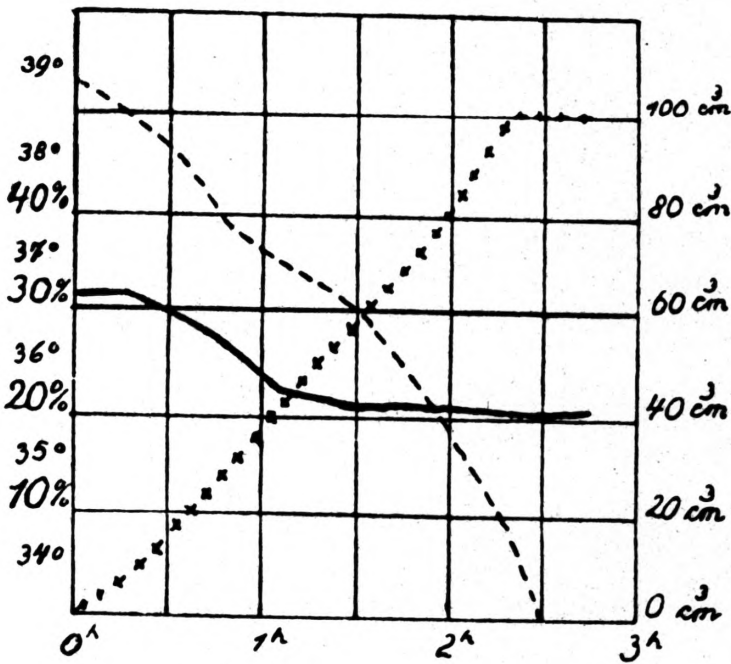
— Atmungskapazität. - - - - - Rektaltemperatur 37°. Abszisse: Zeit in Stunden. Ordinate: O₂-Bindungsvermögen pro cmm Blut in % 36°, bzw. ° C.

Stunden-zeit	Zeit nach der Acetanilid-Injektion	Atmungs-kap. in %	% der Norm	Rek-tal-temp. in ° C.	Bemerkungen
8 ³⁵	0 Min.	—	—	38,8	—
9 ²⁰	0 "	34,13	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
9 ³⁸ —9 ⁵⁰	—	—	—	—	0,01 g Acetanilid in 2 ccm 0,9% ige Na Cl-Lösung in die Jugularis
10 ²⁵	57 Min.	—	—	38,7	—
10 ³⁸	60 "	26,12	76,52	—	Blutentnahme, bräunlich
11 ²⁵	2 Std.	—	—	37,3	—
11 ²⁸	2 "	22,35	65,50	—	Blutentnahme etwas brauner
12 ⁰⁵	2 Std. 30 Min.	—	—	36,15	—
12 ⁰⁸	2 , 40 "	21,24	62,25	—	Blutentnahme von gleicher Farbe wie letzte Probe
12 ⁴⁴	3 , 15 "	—	—	35,7	—
12 ⁴⁶	3 , 20 "	22,15	64,91	—	Blutentnahme, Farbe unverändert
1 ⁰⁵	3 , 35 "	—	—	—	abgebunden
2 ⁰⁰	4 , 30 "	—	—	35,2	—
2 ⁴⁰	5 , 15 "	—	—	—	Tier munter, wieder aufgebunden
2 ⁴⁸	5 , 20 "	31,21	91,44	—	Blutentnahme, Farbe normal
2 ⁵⁵	5 , 30 "	—	—	37,1	—
3 ⁴⁵	6 , 15 "	—	—	38,2	—
3 ⁴⁸	6 , 20 "	34,26	100,30	—	Blutentnahme, Farbe hellrot; abgebunden
5 ¹⁵	7 , 45 "	—	—	38,4	—

Versuch XIII. 6. 7. 20.

Katze, weiß, ♂, 2100 g. 8⁴⁰ h. auf Wärmekissen aufgebunden. In die Jugularis und Arteria femoralis im Ätherrausch Kantülen eingeführt. Blutproben aus der Arteria femoralis jeweils mit einem Körnchen Hirudin ver-

setzt. In die Jugularis wird aus einer Mariotteschen Flasche von 9⁰⁰ h. ab eine 0,5%ige Acetanilidlösung in 0,9%ige NaCl-Lösung einlaufen gelassen.



— Atmungskapazität. - - - - - Rektaltemperatur.
 + + + Menge der eingelaufenen Flüssigkeit.
 Abszisse: Zeit in Stunden. Ordinate: O₂-Bindungsvermögen pro cem Blut in %, bzw. ° C, bzw. cem.

Stundenzeit	Zeit nach d. Einlaufbeginn Min.	Eingelaufene Menge in cem	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektal-Temp. in ° C.	Bemerkungen
8 ⁵⁰	0	—	—	—	38,8	—
9 ⁰⁰	—	—	31,27	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
9 ²⁰	—	—	—	—	—	10 ccm 0,9%ige NaCl-Lösung in die Jugularis
9 ³⁰	—	—	—	—	—	Beginn des Acetanilideinlaufes, ca. 0,5 cem pro Min.
9 ⁵⁰	20	5,0	31,10	99,47	—	Blutentnahme, hellrot
10 ⁰⁰	30	—	—	—	38,2	—
10 ¹⁵	45	25,0	28,14	89,99	—	Blutentnahme, Stich ins Bräunliche
10 ²⁰	50	—	—	—	37,4	—
10 ³⁵	65	40,0	23,10	73,86	—	Blutentnahme, braun
10 ⁴⁵	75	—	—	—	37,0	—
11 ⁰⁰	90	55,0	21,80	69,71	—	Blutentnahme, braun
11 ⁰⁵	95	—	—	—	36,4	—

Stunden-zeit	Zeit nach d. Einlaufbeginn Min.	Einge- laufene Menge in ccm	At- mungs- kap. in %	% der Norm	Rektal- Temp. in ° C.	Bemerkungen
11 ²⁰	110	70	31,18	69,31	—	Blutentnahme, braun
11 ³⁰	120	—	—	—	35,3	—
11 ⁵⁰	140	100	20,27	64,82	—	Blutentnahme, braun
11 ⁵⁰ bis 12 ⁰⁰	—	—	—	—	—	50 ccm 10%iger Traubenzucker in die Jugularis; Acetanilideinlauf abgebrochen
11 ⁵⁵	145	—	—	—	34,1	—
12 ⁰⁰	150	—	—	—	33,4	Reflexerregbarkeit (Cornea) aufgehoben. Krämpfe der Atemmuskulatur, Atemstillstand. Künstl. Atmung. Nach 5 Min. Atmung spontan. Abgebunden und mit Heizkissen und warmen Decken erwärmt
12 ¹⁰	—	—	—	—	—	Cornealreflex +, Atmung spontan 60 in der Min. Ungeordnete Zuckungen in den Extremitäten
12 ¹⁵	165	100	20,97	67,07	—	Blutentnahme, braun
12 ²⁰	—	—	—	—	—	Erneuter Atemstillstand, künstl. Atmung erfolglos
12 ²⁵	175	—	—	—	—	Herzstillstand

In allen Versuchen ruft das Acetanilid eine Herabsetzung des Sauerstoffbindungsvermögens hervor. Im Maximum wird jeweils etwa ein Drittel des Blutfarbstoffes in Methämoglobin umgewandelt, während etwa zwei Drittel unverändert bleiben. Dieses Maximum ist unabhängig von der Menge eingeführter Substanz, die bei annähernd gleich großen Tieren (im Mittel 2000 g) zwischen 0,01 g und 0,5 g, also um den 50fachen Betrag schwankt. Das Maximum wird stets nach 2—3 Stunden erreicht. Lediglich die Dauer des Abklingens der Vergiftung ist von der Menge der eingeführten Substanz abhängig. Die länger dauernde Wirkung in Versuch XI im Vergleich zu Versuch VI muß auf die schwere Schädigung des Tieres durch stundenlanges Aufbinden zurückgeführt werden. In allen Fällen verlief die Kurve der Methämoglobinbildung abweichend von

der Temperaturkurve. Die Methämoglobinbildung ging der Temperaturherabsetzung voraus und erreichte früher ihren Höhepunkt und ihr Ende. Die für die Menge des gebildeten Methämoglobins gefundenen Werte stimmen nicht mit denen Dresers¹⁾ und Dennigs²⁾ überein, die beide mit anderen Methoden gewonnen wurden. Beide fanden höhere Werte, die sich aus der angewandten Methodik leicht erklären lassen. Ersterer stellte seine Untersuchungen mit venösem Blute an, bei letzterem konnte das Acetanilid auf das hämolysierte Hämoglobin vor der Ableseung ungehindert einwirken.

Um etwaige Fehlerquellen auszuschalten, wurde der Einfluß eines gleichmäßigen Kochsalzeinlaufes auf die Atmungskapazität untersucht.

Versuch IX. 30. 6. 20.

Katze, grau, ♀, 2360 g, 8⁴⁰ h. auf Wärmekissen aufgebunden. Im Ätherrausch in die rechte Arteria femoralis und in die linke Vena femoralis Kanülen eingebunden. Blutproben aus der Arteria femoralis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.

Stund.zeit	Zeit nach Einlaufbeginn	Eingelaufene Menge in ccm	Atmungskap. in %	% der Norm	Bemerkungen
9 ⁰⁰	—	—	31,57	100,00	Blutentnahme, hellrot
9 ³⁵	—	—	—	—	Einlaufbeginn von 0,9% NaCl ₂ -Lösung in die Vena femoralis aus Mariottescher Flasche; etwa 1,25 ccm pro Min.
9 ⁵⁸	23 Min.	27	31,29	99,10	Blutentnahme, Farbe unverändert
10 ¹⁸	43 "	53	31,30	99,13	Blutentnahme, hellrot
10 ³⁸	63 "	86	31,81	100,7	" "
11 ⁰⁵	90 "	130	32,17	101,9	" "

Der Einlauf von 130 ccm physiologischer Kochsalzlösung innerhalb 90 Minuten blieb ohne jeden Einfluß auf das Sauerstoffbindungsvermögen des Blutes.

Zur Würdigung des stets auftretenden Maximums von $\frac{1}{3}$ Methämoglobin bei $\frac{2}{3}$ unveränderten Blutfarbstoff und

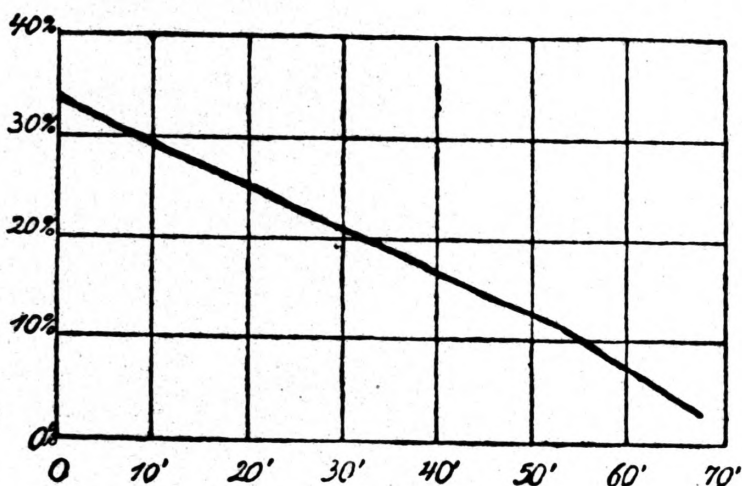
¹⁾ A. a. O.

²⁾ Deutsch. Arch. f. klin. Medizin Bd. 65, S. 524 (1900).

zum Vergleich mit andern Methämoglobinbildnern, die nicht zur weiteren Gruppe des Acetanilids gehören, wurde die Wirkung eines gleichmäßigen intravenösen Einlaufs von Natriumchlorat auf den Blutfarbstoff beobachtet.

Versuch V. 24. 5. 20.

Katze, grau, ♀, 1860 g. In Carotis und Jugularis Kanülen eingeführt. Die aus der Carotis entnommenen Blutproben werden jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.



— Atmungskapazität.

Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Sauerstoffbindungsvermögen pro cem Blut in %.

Stund.-zeit	Zeit nach Einlaufbeginn	Atmungskap. in %	% der Norm	Bemerkungen
3 ¹²	—	33,52	100,0	Blutentnahme, hellrot
3 ¹⁷	—	—	—	Beginn des Einlaufs von 10%ig. NaClO ₃ -Lösung in die Jugularis etwa 0,8 cem pro Min.
3 ²⁷	10 Min.	29,94	89,31	Blutentnahme, Farbe unverändert
3 ³⁷	20 "	25,13	74,96	Blutentnahme, Farbe unverändert
3 ⁴⁹	32 "	20,80	62,04	Blutentnahme, schwach braun
3 ⁵⁹	42 "	15,00	44,75	Blutentnahme, dunkelbraun
4 ¹⁰	53 "	11,30	33,72	" "
4 ²⁴	67 "	3,99	11,91	" "
4 ²⁵	68 "	—	—	Einfluß insgesamt 50 cem; Exitus

Im Gegensatz zu Versuch XIII (Einlauf mit Acetanilid) geht hier die Methämoglobinbildung gleichmäßig voran, bis bei der Herabsetzung der Atemfähigkeit des Blutes auf 12% der Norm der Tod eintritt, der im Acetanilidversuch XIII sicher nicht auf den Mangel an atmungsfähigem Blut, sondern auf die Wirkung des Acetanilids auf das Zentralnervensystem zurückzuführen ist. In Versuch XI (intravenöse Injektion von 0,1 g Acetanilid in 20 ccm Ringer) erfolgte der Tod nach völliger Wiederherstellung des normalen Oxyhämoglobingehalts bei dauernd stark herabgesetzter Körpertemperatur.

c) An der Atmung von kernhaltigen roten Blutkörperchen.

Versuch XIV. 8. 7. 20.

Defibriniertes Gänseblut wird versetzt mit der gleichen Menge

1. Ringerlösung
2. 0,5% Acetanilid in Ringerlösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungskapazität des Acetanilidblutes zum unbehandelten Blut in %
30 Min.	73,68
1 Std.	75,00
1 „ 30 Min.	66,10
2 „ 30 „	71,70
3 „ 45 „	65,39
7 „	64,16

Versuch XVI. 12. 7. 20.

Defibriniertes Gänseblut. Anordnung wie Versuch XIV.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungskapazität des Acetanilidblutes zum unbehandelten Blut in %
45 Min.	72,22
2 Std.	65,14
3 „	65,84
4 Std. 30 Min.	66,90

Versuch XVIII. 15. 7. 20.

Anordnung wie Versuch XIV.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungs- kapazität des Acetanilidblutes zum unbehandelten Blut in %
1 Std.	65,95
2 „	68,16
3 „	64,94
4 „	67,57
5 „	64,84
6 „	62,55
7 Std. 45 Min.	62,90

Versuch XIX. 16. 7. 20.

Anordnung wie in Versuch XIV.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungs- kapazität des Acetanilid- bluts zum unbehandelten Blut in %
45 Min.	68,75
1 Std. 45 „	66,07
2 „ 15 „	69,10
3 „ 15 „	66,80
4 „ 15 „	66,07
5 „ 15 „	65,01
6 „ 15 „	63,35
7 „ 15 „	66,06
8 „ 15 „	65,14
22 „ 15 „	64,48

Alle Versuche zeigen das gleiche Ergebnis. Durch Zusatz von Acetanilidlösung wird die Atmungsfähigkeit der roten Blutkörperchen auf zwei Dritteile des ursprünglichen Wertes herabgesetzt. Bis zur Einstellung dieses Gleichgewichts bedarf es einiger Zeit, doch bleibt der Wert über 24 Stunden fast unverändert bestehen. Daß auch hierbei die Konzentration keine Rolle spielt, zeigt folgender Versuch.

Versuch XXXII. 5. 8. 20.

Aus defibriniertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

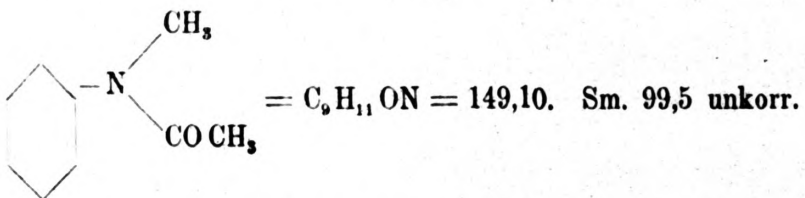
1. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%ige NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,5%iges Acetanilid in 0,9%ige NaCl-Lösung,
3. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,5%iges Acetanilid in 0,9%ige NaCl-Lösung,
2 Teile 0,9%ige NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungs- fähigkeit von Mischung 2 zu Mischung 1 in %	Verhältnis der Atmungs- fähigkeit von Mischung 3 zu Mischung 1 in %
1 Std.	77,93	75,87
2 „	71,07	72,14
3 „ 30 Min.	65,39	65,97
6 „	63,70	63,56
8 „	66,07	65,39

Auch hier wird wiederum die gleiche Atmungsbeeinträchtigung unabhängig von der angewandten Konzentration des Acetanilids erzielt.

Das Gemeinsame aller Versuche mit Acetanilid ist der Umstand, daß in allen Fällen eine Umwandlung von normalem Blutfarbstoff in Methämoglobin erfolgt. Bei dieser Umwandlung stellt sich unabhängig von angewandter Konzentration und Menge ein Gleichgewicht ein, das erreicht wird, wenn etwa ein Drittel des Blutfarbstoffes in Methämoglobin umgewandelt ist.

2. Versuche mit Acetyl-N-Methylanilin.



(Präparat von Prof. Skita, Freiburg.) 1 Teil Substanz löst sich in 125 Teilen kalten Wassers mit neutraler Reaktion.

a) In vitro.

Versuch IV. 23. 6. 20.

8²⁵ h. Katzenblut steril aus der Carotis entnommen, 15 Minuten mit runden Glasperlen geschüttelt, 20 Minuten zentrifugiert. Die Blutkörperchen werden 3mal je 20 Minuten mit Ringerlösung gewaschen und dann mit der 3fachen Menge Ringerlösung aufgeschwemmt. Je 10 ccm der Aufschwemmung werden gemischt um 11⁰⁵—11¹⁰ h.

1. mit 10 ccm Ringerlösung,

2. mit 10 ccm 0,5%iger Acetyl-N-Methylanilinlösung in Ringer (0,0167 Millimol pro ccm)

und von 11³⁰—11⁴⁵ h. in der Schüttelmaschine geschüttelt.

1 Zeit nach dem Mischen	2 Atmungskapazität der Blutkörperchen- Aufschwemmung in %	3 Atmungskapazität der Aufschwemmung mit Acetyl-N- Methylanilin in %	4 Verhältnis von 3 : 2 in %
40 Min.	17,35	17,31	99,74
270 „	17,73	17,72	99,98
23 Std.	17,15	16,90	98,57
53 „	17,50	17,31	98,90

Die Atmungskapazität bleibt 53 Stunden hindurch unverändert. Methämoglobin wird also nicht gebildet.

b) In vivo.

Der Versuch, die Wirkung des Acetyl-N-Methylanilins auf Katzenblut in vivo zu untersuchen, mißlang infolge der außerordentlich hohen Nervengiftigkeit des Körpers. Während der intravenösen Injektion einer 0,2%igen Lösung traten sofort Krämpfe der gesamten Körpermuskulatur auf, die nach 2 Minuten zum Tode durch Atemstillstand führten. Das Blut war unverändert.

c) An der Atmung von Gänseblutkörperchen.

Versuch XXI. 20. 7. 20.

Defibriertes Gänseblut wird versetzt mit der gleichen Menge

1. 0,9%igen NaCl-Lösung,

2. 0,5%igen Acetyl-N-Methylanilins in 0,9%ige NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit des Acetyl-N-Methylanilinbluts zum unbehandelten Blut in %
1 Std.	97,4
2 „	98,8
5 „	100,03
6 „	100,02

Versuch XXII. 22. 7. 20.

Defibriniertes Gänseblut wird versetzt mit der gleichen Menge

1. 0,9%iger NaCl-Lösung,
2. 1,0%igen Acetyl-N-Methylanilins in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit von Lösung 2: Lösung 1 in %
30 Min.	98,0
2 Std. 15 „	102,5
3 „	98,8
5 „	100,3
7 „	100,0

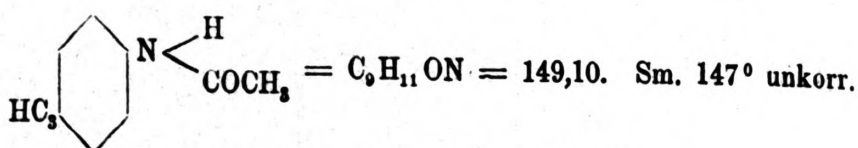
Das Acetyl-N-Methylanilin ist also in keinem Falle imstande, Methämoglobin zu bilden. Dies stimmt mit den Feststellungen von Heinz¹⁾ überein, der auch bei peroraler Verabreichung von verhältnismäßig großen Dosen bei Menschen und Tieren niemals Methämoglobinbildung fand. Von Kunkel²⁾ und Kobert³⁾ wird offenbar auf Grund einer mißverständlichen Auffassung der Heinzschen Angaben das Acetyl-N-Methylanilin als Methämoglobinbildner angesprochen.

¹⁾ Berlin. Klin. Wochenschr. S. 250 (1890).

²⁾ Handbuch der Toxikologie S. 625 (1901).

³⁾ Intoxikationen, II. Auflage, Bd. II (1906).

3. Versuche mit Acetyl-p-toluidin.



(Präparat von Prof. Skita, Freiburg.)

1 Teil Substanz ist in 650 Teilen kalten Wassers löslich; die Lösung reagiert neutral. In Wasser von 37° löst es sich im Verhältnis 1 : 400.

a) In vivo.

Versuch XXXVII. 10. 8. 20.

Katze, Tiger, ♀, 1880 g. 8²⁵ h. aufgebunden auf Wärmekissen; im Ätherrausch Kanülen in die Carotis und Jugularis eingeführt. Blutproben aus der Carotis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.

Stundenzeit	Zeit nach der Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektal-Temp. in °C.	Bemerkungen
8 ²⁰	—	—	—	39,9	—
8 ²⁵	—	18,29	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
8 ^{40—45}	—	—	—	—	28,5 ccm 0,2%ige Acetyl-p-toluidinlösung in 0,9%iger NaCl-Lösung körperwarm in die Jugularis
9 ¹⁵	30 Min.	18,22	99,60	—	Blutentnahme, hellrot
9 ¹⁸	33 „	—	—	40,2	abgebunden
9 ⁴⁵	60 „	—	—	38,5	—
10 ¹⁰	—	—	—	37,8	auf Wärmekissen aufgebunden
10 ¹⁵	90 Min.	18,30	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
10 ²⁰	—	—	—	38,2	—
10 ⁴⁵	2 Std.	18,39	100,6	—	Blutentnahme, hellrot
10 ⁵⁰	—	—	—	39,1	abgebunden
10 ⁵⁵	—	—	—	38,9	Katze völlig normal, springt im Käfig herum
11 ³⁰	—	—	—	37,6	aufgebunden ohne Wärmekissen
11 ⁴⁵	3 Std.	18,16	99,4	—	Blutentnahme, hellrot
12 ¹⁵	3 Std. 30 Min.	18,25	99,88	36,0	Blutentnahme, hellrot; abgebunden
12 ⁴⁰	—	—	—	36,2	—
2 ⁰⁰	—	—	—	37,9	—

Stundenzeit	Zeit nach der Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektaltemp. in °C.	Bemerkungen
3 ⁰⁰	—	—	—	38,4	aufgebunden
3 ¹⁵	6 Std. 30 Min.	18,36	100,5	—	Blutentnahme, hellrot; abgebunden
5 ¹⁵	—	—	—	38,8	—

Die Atmungskapazität bleibt 6¹/₂ Stunden lang unbeeinflusst, die Körpertemperatur wird deutlich herabgesetzt.

b) An der Atmungsfähigkeit roter Gänseblutkörperchen.

Versuch XXIII. 23. 7. 20.

Aus defibriertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%ige NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,2%ige Acetyl-p-toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit von Mischung 2 : 1 in %
1 Std.	101,0
2 „	101,3
3 „	101,1
3 Std. 30 Min.	100,8
5 „ 30 „	100,9
7 „ 30 „	100,2

Versuch XXIII. 6. 8. 20.

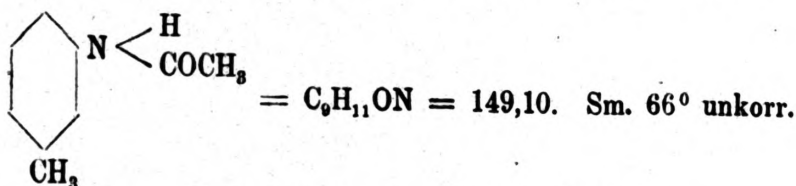
Aus defibriertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 2 Teile 0,9%ige NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 2 Teile 0,2%iges Acetyl-p-toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit von Mischung 2 : 1 in %
1 Std.	102,5
2 „	100,1
3 „ 30 Min.	100,75
6 „	100,0
8 „	100,3

Das Acetyl-p-toluidin ruft also keine Methämoglobinbildung hervor.

4. Versuche mit Acetyl-m-toluidin.



(Präparat von Prof. Skita, Freiburg.)

1 Teil Substanz löst sich in 123 Teilen kalten Wassers mit neutraler Reaktion.

a) In vivo.

Versuch XXXVIII. 11. 8. 20.

Katze, jung, dunkler Tiger, ♂, 1350 g. 8³⁰ h. auf Wärmekissen aufgebunden, im Ätherrausch in Carotis und Jugularis Kantilen eingeführt. Blutproben aus der Carotis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.

Stundenzeit	Zeit nach der Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektal-Temp.	Bemerkungen
8 ¹⁵	—	—	—	37,6	—
8 ³⁰	5 Min.	19,69	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
8 ³⁵⁻⁴⁰	—	—	—	—	20,3 ccm 0,2% iges Acetyl-p-m-toluidin in 0,9% ige Na Cl-Lösung in die Jugularis (körperwarm)
8 ⁴⁵	5 Min.	—	—	38,6	—
9 ¹⁰	30 "	19,51	99,1	—	Blutentnahme, hellrot; abgebunden
10 ⁰⁰	—	—	—	37,5	aufgebunden ohne Wärmekissen
10 ¹⁰	1 Std. 30 Min.	19,66	99,9	—	Blutentnahme, hellrot
10 ⁴⁰	2 Std.	19,33	98,1	—	Blutentnahme, hellrot; abgebunden
10 ⁴⁵	—	—	—	35,8	—
11 ³⁵	—	—	—	36,1	aufgebunden ohne Wärmekissen
11 ⁴⁰	3 Std.	19,21	97,6	—	Blutentnahme, hellrot
11 ⁴⁵	—	—	—	35,4	—
12 ¹⁰	3 Std. 30 Min.	19,70	100,0	—	Blutentnahme, hellrot; abgebunden

Es wird also kein Methämoglobin gebildet; die Körpertemperatur wird deutlich herabgesetzt.

b) An der Atmungsfähigkeit roter Gänseblutkörperchen.

Versuch XXIIIa. 23. 7. 20.

Aus defibriertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%ige NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,2%iges Acetyl-m-toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit von Mischung 2 : 1 in %
1 Std.	99,28
2 "	99,1
3 "	100,9
3 Std. 30 Min.	100,5
5 " 30 "	100,1
7 Std.	99,8

Versuch XXXIIIa. 6. 8. 20.

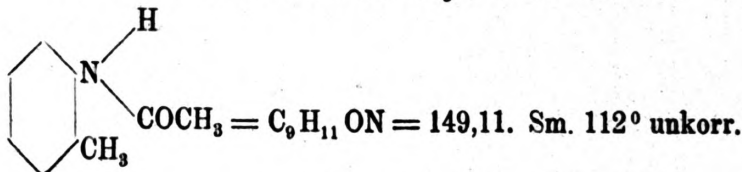
Aus defibriertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 2 Teile 0,9%ige NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 2 Teile 0,2%iges Acetyl-m-toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit von Mischung 2 : 1 in %
1 Std.	103,4
2 "	99,9
3 Std. 30 Min.	100,0
6 Std.	99,8
8 "	100,3

Methämoglobinbildung durch Acetyl-m-toluidin ist in keinem Falle nachzuweisen.

5. Versuche mit Acetyl-o-toluidin.



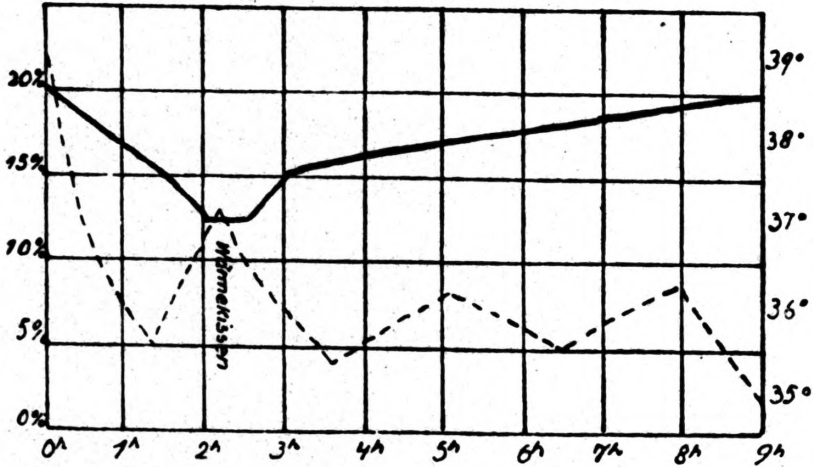
(Präparat von Prof. Skita, Freiburg.)

1 Teil Substanz löst sich in 210 Teilen kalten Wassers mit neutraler Reaktion.

a) In vivo.

Versuch XXXVI. 9. 8. 20.

Katze, gelb, ♂, 2150 g, 8⁸⁰ h. auf Wärmekissen aufgebunden, in Carotis und Jugularis im Ätherrausch Kanülen eingelegt. Blutproben aus der Carotis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.



— Atmungskapazität. - - - - Rektaltemperatur. Abszisse: Zeit in Stunden.
Ordinate: O₂-Bindungsvermögen pro cem Blut in %, bzw. °C.

Stundenzeit	Zeit nach der Injektion	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektaltemp. in °C	Bemerkungen
8 ²⁵	—	—	—	38,9	—
8 ⁴⁵	—	20,03	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
8 ⁵⁰⁻⁵⁵	—	—	—	—	32,5 ccm 0,2% Abetyl- toluidin in 0,9% NaCl- Lösung in die Jugularis
9 ¹²	—	—	—	37,3	—
9 ²⁵	30 Min.	18,78	93,76	—	Blutentnahme, leicht braun
9 ³⁰	—	—	—	36,4	abgebunden
9 ⁵⁰	—	—	—	—	Katze munter, regelrecht
10 ¹⁵	—	—	—	35,5	auf Wärmekissen aufge- bunden
10 ²⁵	90 Min.	15,40	76,96	—	Blutentnahme, leicht braun
10 ⁵⁵	2 Std.	12,75	63,66	37,1	Blutentnahme, braun
11 ²⁵	2 Std. 30 Min.	12,95	64,50	36,3	Blutentnahme, braun
11 ⁵⁵	3 Std.	14,70	73,54	—	Blutentnahme, braun

Stunden-Zeit	Zeit nach der Injektion	Atmungs-kap. in %	% der Norm	Rektal-temp. in ° C.	Bemerkungen
12 ²⁵	3 Std. 30 Min.	15,50	77,45	35,4	Blutentnahme, braun, abgebunden
2 ⁰⁰	—	—	—	36,2	—
3 ¹⁵	—	—	—	35,5	aufgebunden
3 ²⁵	6 Std. 30 Min	18,26	91,15	—	Blutentnahme, leicht braun, abgebunden, trinkt und frißt
4 ⁵⁵	—	—	—	36,2	—
5 ⁵⁵	9 Std.	19,87	99,20	—	aufgebunden, Blutentnahme, Farbe fast normal, abgebunden
6 ²⁵	—	—	—	34,8	—
9 ⁰⁰	—	—	—	35,3	—
10. 8. 20.	—	—	—	—	—
8 ¹⁵	—	—	—	38,2	Tier völlig erholt

Die Einführung von Acetyl-o-toluidin ruft also eine Methämoglobinbildung hervor. Das Maximum, etwa ein Drittel des Blutfarbstoffes, wird nach 2—2½ Stunden, das Ende nach 9 Stunden erreicht. Daneben wird die Körpertemperatur nachhaltig für viele Stunden herabgesetzt.

b) An der Atmungsfähigkeit roter Gänseblutkörperchen.

Versuch XXIV. 26. 7. 20.

Aus defibriniertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

- 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%ige NaCl-Lösung,
- 1 Teil Blut + 1 Teil 0,2%iges Acetyl-o-toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit von Mischung 2: Mischung 1 in %
1 Std.	89,8
2 "	80,0
2 " 30 Min.	81,3
3 " 30 "	70,8
4 " 45 "	69,0
5 " 30 "	67,5
7 "	64,6

Versuch XXV. 27. 7. 20.

Dieselbe Anordnung wie in Versuch XXIV.

Zeit nach Ver- suchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit von Mischung 2 : Mischung 1 in %
1 Std.	70,0
2 "	65,1
3 "	64,9
4 "	66,6
6 " 15 Min.	69,3
7 "	67,2
9 "	66,4

Auch hier findet Methämoglobinbildung statt. Etwa ein Drittel des Blutfarbstoffes wird umgewandelt.

6. Versuche mit nicht methyliertem Anilin und den Toluidinen.

Wegen der außerordentlich starken Allgemeingiftigkeit wurde von Versuchen in vivo abgesehen, und nur die Wirkung der Körper auf den Blutfarbstoff an der Atmungsfähigkeit der Gänseblutkörperchen verfolgt.

Versuch XXIX. 31. 7. 20.

Aus defibriniertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%ige NaCl-Lösung,
3. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,5%iges Anilin in 0,9%iger NaCl-Lösung,
3. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,5%ige p-Toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Ver- suchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit	
	von Mischung 2 : 1 in %	von Mischung 3 : 1 in %
1 Std.	97,0	76,6
2 "	94,1	70,1
3 "	95,5	66,0
5 " 45 Min.	89,6	52,1
7 "	91,5	50,5

Versuch XXXI. 4. 8. 20.

Aus defibriertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%ige NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 1 Teil 1,0%iges Anilin in 0,9%iger NaCl-Lösung,
3. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,1%iges p-Toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit	
	von Mischung 2:1 in %	von Mischung 3:1 in %
1 Std.	69,4	70,5
2 „	63,7	75,4
3 „ 30 Min.	53,0	62,3
6 „ 15 „	39,9	69,8
8 „	39,2	70,2

Versuch XXVIII. 30. 7. 20.

Aus defibriertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%iger NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,5%iges m-Toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung,
3. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,5%iges o-Toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Versuchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit	
	von Mischung 2:1 in %	von Mischung 3:1 in %
1 Std.	55,4	83,2
2 „	50,6	79,5
3 „	47,0	77,1
5 „ 45 Min.	36,9	67,4
7 „	37,0	66,5

Versuch XXX. 3. 8. 20.

Aus defibriniertem Gänseblut werden folgende Mischungen hergestellt:

1. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,9%iger NaCl-Lösung,
2. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,1%iges m-Toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung,
3. 1 Teil Blut + 1 Teil 0,1%iges o-Toluidin in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Zeit nach Ver- suchsbeginn	Verhältnis der Atmungsfähigkeit	
	von Mischung 2:1 in %	von Mischung 3:1 in %
1 Std.	76,3	89,1
2 „	78,7	89,9
3 „	82,0	86,9
4 „	74,0	84,8
6 „ 30 Min.	63,7	76,4
8 „ 30 „	58,7	72,4

Anilin und die drei Toluidine sind also sämtlich Methämoglobinbildner. Aus der quantitativen Beobachtung ihrer Blutgiftigkeit ergibt sich die Tatsache, daß ihre Giftigkeit verschieden groß ist. m-Toluidin ist am giftigsten, dann folgt die Paraverbindung, die Orthoverbindung und endlich das Anilin selbst. Der Grad der Blutveränderung ist im Gegensatz zum Acetanilid abhängig von der wirksamen Konzentration, doch scheinen sich auch hier Gleichgewichte nach längerer Zeit einzustellen; von einer weiteren Verfolgung wurde abgesehen, weil diese Körper nur mittelbar im Zusammenhang mit den Aufgaben der Arbeit stehen. Sicher ist aber, daß die erreichten Maxima der in Methämoglobin umgewandelten Blutfarbstoffmenge für jeden der vier Körper verschieden ist und von dem für das Acetanilid gefundenen Wert abweicht.

IV. Zusammenfassung und Ergebnisse.

Betrachten wir nun die geschilderten Versuche, so ergibt sich, daß das Acetanilid, wenn es mit Blut in dem Tierkörper oder im Reagenzglas zusammenkommt, einen Teil des

Blutfarbstoffes in Methämoglobin umwandelt. Die Umwandlung geht nicht sofort vor sich, wie bei einer Anzahl anderer Methämoglobinbildner, sondern bedarf einer gewissen Zeit, die am größten ist bei dem nicht atmenden Katzenblut *in vitro*. *In vivo* und bei dem stark atmenden Blut der Gans zeigt sich das Methämoglobin schon nach verhältnismäßig viel kürzerer Zeit. Weiterhin ist der erreichbare Grad des gebildeten Methämoglobins im hohen Grade unabhängig von der Menge und der Konzentration des zugeführten Acetanilids. Diese beiden Umstände legen die Vermutung nahe, daß das Acetanilid nicht unmittelbar auf den Blutfarbstoff einwirkt, sondern daß, wie Heubner¹⁾ dies für die Amidophenole und das Anilin gefordert und Lipschitz²⁾ es für das Dinitrophenol nachgewiesen hat, auch hier erst ein Umwandlungsprodukt des Acetanilids als eigentlicher Methämoglobinbildner anzusprechen sei. Der Umstand, daß schon geringe Mengen Acetanilid (0,01 g bei einem Tier von 2 kg in Versuch VII) ein Drittel des Blutfarbstoffes in Methämoglobin umwandeln können, spricht dafür, daß ähnlich, wie es Heubner angenommen hat, ein Molekül des Methämoglobinbildners mit einer größeren Anzahl von Hämoglobinmolekülen in Reaktion tritt, also im gewissen Sinne katalytisch wirkt. Der Umstand, daß bei allen Versuchen mit Acetanilid, ebenso auch mit dem Acetyl-o-methylanilin die gleiche prozentuale Menge Methämoglobin gebildet wird, setzt ein Gleichgewicht zwischen Blutfarbstoff, Acetanilid, methämoglobinbildendem Umwandlungsprodukt und Stoffwechselendprodukt voraus. Auch bei dem dem Acetanilid nahestehenden Phenacetin liegen die Verhältnisse ähnlich. Aus Versuchen von Piccinini³⁾ über die Blutgase beim Hunde nach Phenacetindarreichung *per os* läßt sich errechnen (Versuche V—VIII), daß der freie Blutsauerstoff unabhängig von der zugeführten Menge Phenacetin (0,1 bis 0,43 g pro kg) gleichmäßig um etwa ein Drittel herabgesetzt wurde. Abgesehen vom Zeitfaktor verhält sich das

¹⁾ a. a. O.

²⁾ a. a. O.

³⁾ Archiv intern. de Pharmacodyn. Bd. 22, S. 27 (1912).

Blut in vitro ebenso wie im Körper. Daß auch im Reagenzglas Restitutionsvorgänge des Blutfarbstoffes sich abspielen, hat schon Dreser¹⁾ gezeigt.

An welches Zwischenprodukt des Acetanilids hat man nun bei der Methämoglobinbildung zu denken? Betrachten wir die Methylsubstitutionsprodukte des Acetanilids, so bildet nur das Acetyl-o-toluidin Methämoglobin, und zwar im selben Grade wie das Acetanilid selbst, das am Stickstoff methylierte Acetanilid sowie die Meta- und Paraverbindung sind für den Blutfarbstoff ungiftig. Bei der Annahme Heubners²⁾, daß das Zwischenprodukt ein Chinonimin sei, hätte das Acetyl-p-toluidin ebenso wie das Acetyl-o-toluidin blutgiftig sein müssen, da bei beiden eine Chinoniminbildung möglich ist. Weiterhin ist an die bimolekulare Oxydationsform der Aniline, an die Azoverbindungen, zu denken. Dagegen spricht der Umstand, daß die acetylierten Methämoglobinbildner, Acetanilid, Acetyl-o-toluidin und Phenacetin untereinander gleich, aber verschieden von dem nicht acetylierten Anilin und seinen Homologen auf den Blutfarbstoff wirken, daß aber die Bildung von Azobenzol die vorherige Abspaltung der Acetylgruppe voraussetzt, die auch nach den Untersuchungen von Jaffe und Hilbert³⁾ wenigstens für den Fleischfresser als ausgeschlossen angesehen werden muß.

Es bleibt also noch die Möglichkeit, daß das gesuchte Zwischenprodukt durch Oxydation des Stickstoffwasserstoffs unter Bildung eines Hydroxylamins entsteht. Hierfür spricht, daß das an Stickstoff methylierte Acetanilid kein Methämoglobin bildet, da bei ihm alle Stickstoffwasserstoffatome durch andere Radikale ersetzt sind. Dagegen sprach zunächst die Ungiftigkeit des p- und m-Acetyltoluidins im Gegensatz zum Acetanilid und zum Acetyl-o-toluidin. Nun weiß man aber aus der Arbeit von Jaffe und Hilbert⁴⁾, daß die Para- und

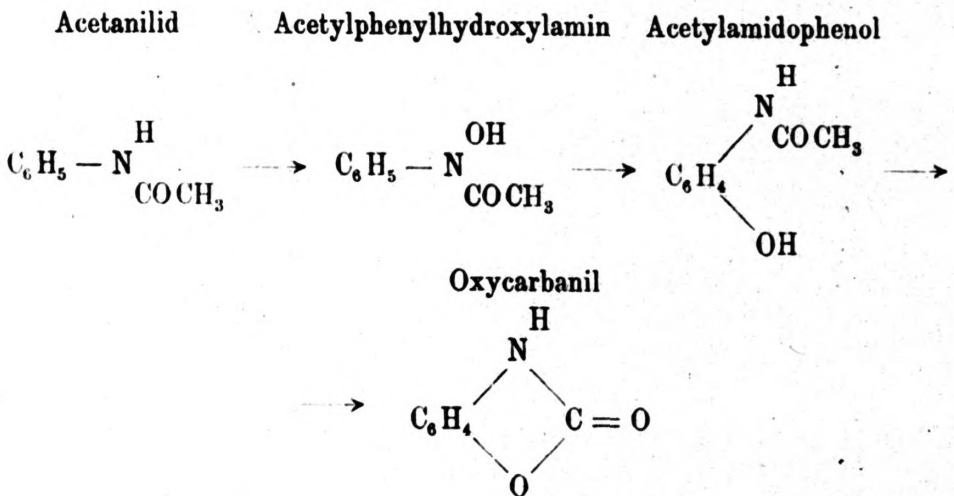
¹⁾ a. a. O.

²⁾ Diese Zeitschr. Bd. 12, S. 295 (1888).

³⁾ a. a. O.

⁴⁾ a. a. O.

Metaverbindung im Tierkörper zu den entsprechenden Acetylaminobenzoensäuren oxydiert werden, während aus dem Acetanilid und dem Acetyl-o-toluidin beim Fleischfresser Oxycarbanil bzw. Methyloxycarbanil entstehen. Diese setzen die intermediäre Bildung von Acetylamidophenol voraus; letzteres könnte aber wohl aus der Umlagerung des bei der Oxydation zunächst gebildeten Acetylphenylhydroxylamin oder neben ihm entstanden sein. Die Umlagerung wäre also folgendermaßen zu denken:



Das dabei gebildete Acetylphenylhydroxylamin könnte dann zu einem Teil mit dem Blutfarbstoff in Reaktion treten und unter Rückreduktion zum Acetanilid das Hämoglobin in Methämoglobin verwandeln.

Um diese Frage restlos zu klären, war es notwendig, das geforderte Zwischenprodukt auch zu fassen. Diese Möglichkeit schien im Hinblick auf die große Unbeständigkeit der Hydroxylamine und auf den Umstand, daß nach den gemachten Ausführungen immer nur sehr spärliche Mengen der Substanz im Blute gleichzeitig vorhanden sein können, gering. Dennoch gelang es, Acetylphenylhydroxylamin aus dem Blut mit Acetanilid vergifteter Tiere darzustellen und dasselbe als einen unmittelbaren und schon in sehr kleinen Mengen wirksamen Methämoglobinbildner zu erweisen.

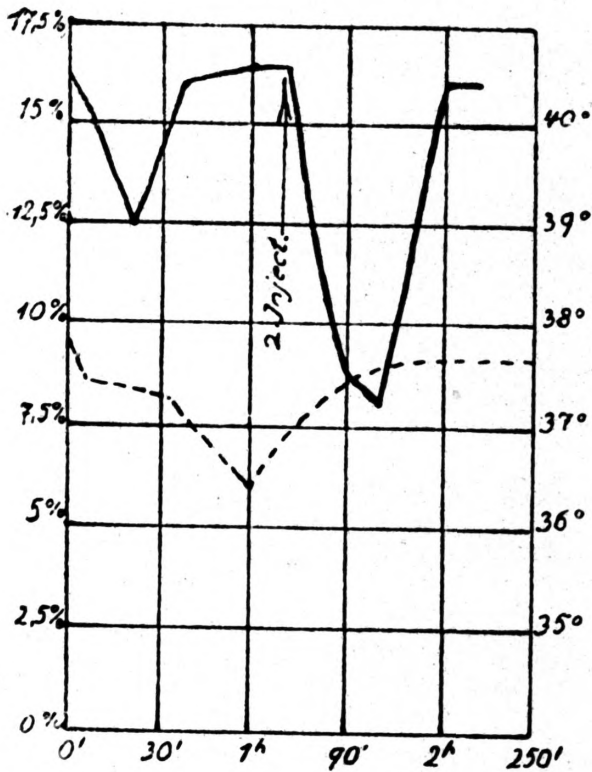
Es wurden eine Anzahl Katzen mit möglichst großen

Mengen Acetanilid vergiftet. Auf dem Höhepunkt der Methämoglobinbildung, 2—2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach Einführung des Giftes in die Vene, wurden sie verblutet. Das Blut wurde mit Schwefelsäure schwach angesäuert — aus einer alkalisch gemachten Fraktion konnte bei gleicher Behandlung keine wirksame Substanz gewonnen werden — und mit Äther so lange im Schütteltrichter geschüttelt, bis Proben des Äthers, ohne Rückstand zu hinterlassen, verdunsteten. Die ätherische Lösung wurde an der Luft eingedunstet, bis ein schmieriges, braunes Öl als Rückstand hinterblieb, das dann mehrere Stunden mit lauwarmem Wasser digeriert wurde. Fast das ganze Öl ging in Lösung; das Wasser wurde unter vermindertem Druck bei Zimmertemperatur abgedunstet. Der verbleibende schmierig-ölige Rückstand reduzierte Fehlingsche Lösung in der Kälte und erzeugte in Katzenblut *in vitro* sofort Methämoglobin. Beide Eigenschaften gingen bei dem Erhitzen auf dem Wasserbade nicht verloren. Zur Reinigung wurde daher die in Wasser gelöste Substanz mit Tierkohle aufgeköcht und das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft. Es verblieb eine weißliche, ölige, nicht einheitliche Substanz, die zum größten Teil in kaltem Alkohol leicht löslich war. Der Rückstand, der in kaltem Alkohol fast unlöslich war und beim Verreiben mit diesem kleine Kristalle zeigte, wurde mit wenig kochendem Wasser aufgenommen. Beim Erkalten kristallisierte die Substanz in seidenglänzenden, breiten Nadeln aus. Im ganzen wurden 1,8 mg des reinen Körpers aus dem Blut von vier mit insgesamt 2,2 g Acetanilid vergifteten Katzen gewonnen. Eine Spur der Substanz erzeugte mit Katzenblut zusammengebracht sofort hochgradige Methämoglobinbildung *in vitro*. Mit dem nicht völlig gereinigten Körper vor Abtrennung der in kaltem Alkohol löslichen Verunreinigung wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch XXXX. 13. 8. 20.

Katze, Tiger ♀, 1360 g. Eine kleine Menge des Extraktivstoffes, insgesamt 1,2 mg mit Verunreinigung, wovon höchstens $\frac{1}{4}$ auf den reinen Körper entfallen, werden in 24 ccm Ringer gelöst (Lösung reagiert neu-

tral). 8¹⁵ h. Katze auf Wärmekissen aufgebunden, in Carotis und Jugularis werden im Ätherrausch Kanülen eingelegt. Blutproben aus der Carotis jeweils mit einem Körnchen Hirudin versetzt.



— Atmungskapazität. - - - - Rektaltemperatur.
 Abszisse: Zeit nach der ersten Injektion in Minuten.
 Ordinate: O₂-Bindungsvermögen pro cem Blut in %, bzw. ° C.

Stundenzeit	Zeit nach der Injektion Minuten	Atmungskap. in %	% der Norm	Rektal-Temp. in °C.	Bemerkungen
8 ²⁰	—	—	—	37,8	—
8 ²⁵	—	16,18	100,0	—	Blutentnahme, hellrot
8 ³⁵	0	—	—	—	4 ccm Lösung des Extraktivstoffs in Ringer in die Jugularis (körperwarm)
8 ⁴²	—	—	—	37,4	—
8 ⁴⁵	10	14,74	91,11	—	Blutentnahme, leicht bräunlich
8 ⁵⁵	20	12,35	76,38	—	Blutentnahme, bräunlich

Stunden-zeit	Zeit nach der Injektion Minuten	At- mungs- kap. in %	% der Norm	Rek- tal- temp. in ° C.	Bemerkungen
9 ¹⁰	35	15,91	98,31	37,2	Blutentnahme, leicht bräunlich
9 ³⁰	55	16,27	100,55	—	Blutentnahme, hellrot
9 ³⁵	—	—	—	36,4	Wärmekissen abgekühlt, neugefüllt
9 ⁴⁵	0	—	—	—	20 ccm Lösung des Extraktivstoffs in Ringer in die Jugularis
9 ⁵⁰	—	—	—	37,1	—
9 ⁵⁵	10	11,20	69,20	—	Blutentnahme, leicht bräunlich
10 ⁰⁵	20	8,50	52,52	—	Blutentnahme, braun
10 ¹⁰	—	—	—	37,5	—
10 ¹⁵	30	7,87	48,64	—	Blutentnahme, braun
10 ²⁵	40	12,44	78,67	—	Blutentnahme, braun
10 ³⁵	50	15,88	97,79	—	Blutentnahme, bräunlich
10 ⁴⁰	—	—	—	37,6	—
10 ⁴⁵	60	15,91	98,33	—	Blutentnahme, hellrot
11 ⁰⁵	—	—	—	37,6	—

Die gefundene Substanz ruft also in sehr kleiner Dosis in vivo Methämoglobinbildung hervor, die unmittelbar nach der Einführung eintritt und schon nach kurzer Zeit abgeklungen ist. Das Maximum der gebildeten Methämoglobinmenge ist abhängig von der Quantität der zugeführten Substanz und stimmt nicht mit der prozentualen Menge Methämoglobin überein, die bei Einführung von Acetanilid gebildet wird. Die Temperatur wird wenigstens durch diese kleinen Dosen nicht nennenswert beeinflusst.

Chemisch zeigt der gefundene Stoff folgende Eigenschaften. Er reduziert Fehlingsche Lösung in der Kälte. Mit Eisenchlorid bildet er in konzentrierter Lösung rotviolette Flocken, die sich beim Verdünnen mit Wasser in gleicher Farbe lösen. Die wäßrige Lösung reagiert gegen Lackmus sauer; in Ringerscher Flüssigkeit löst sich die Substanz mit neutraler Reaktion. Der Schmelzpunkt des mehrfach aus Wasser umkristallisierten Körpers beträgt 65,5° uncorr. Eine Elementaranalyse konnte

wegen der geringen zur Verfügung stehenden Menge nicht ausgeführt werden. Der Körper enthält Stickstoff (Lassaigne positiv) und verbrennt restlos auf dem Platinspatel.

In seinen Eigenschaften stimmt die Substanz überein mit dem von Bamberger und Destraz¹⁾ durch die Einwirkung von Essigsäure auf Methylendiphenylhydroxylamin dargestellten Acetylphenylhydroxylamin. Dieses gibt die geschilderten Reaktionen und hat einen Schmelzpunkt von 67—67,5°. Die gefundene Abweichung von 1½° ist wohl durch die Schwierigkeit der Reinigung des Körpers bei so geringer Menge zu erklären. Man darf das gefundene Zwischenprodukt vorbehaltlich der übereinstimmenden Elementaranalyse als Acetylphenylhydroxylamin ansprechen. Aus unbehandeltem Blut, das in der gleichen Weise extrahiert wurde, konnte eine entsprechende Substanz nicht gewonnen werden.

Die Methämoglobinbildung durch Acetanilid scheint also darauf zu beruhen, daß es bei der Berührung mit tierischem Gewebe in Acetylphenylhydroxylamin umgewandelt wird, das wie alle Hydroxylamine ein unmittelbarer, starker Methämoglobinbildner sein muß. Den gleichen Prozeß darf man wohl auch für das Acetyl-*o*-toluidin und das Phenacetin als vorliegend ansehen. Ob auch für Anilin und andere nicht acetylierte Anilinderivate eine intermediäre Hydroxylaminbildung anzunehmen ist, läßt sich ohne Isolierung dieses Stoffwechselprodukts nicht voraussagen, und diese Isolierung stößt z. B. bei dem nach der Anwendung von Anilin zu erwartenden Phenylhydroxylamin wegen der erheblich größeren Unbeständigkeit auf außerordentliche Schwierigkeiten. Nach dem ganz verschiedenen Verhalten so nahe stehender chemischer Verwandter wie der drei Acetyltoluidine im Tierkörper wird man sich jedenfalls vor Analogieschlüssen hüten müssen, die nicht experimentell belegt sind.

¹⁾ Berichte d. deutsch. Chem. Gesellsch. Bd. 35, S. 1883 (1902).