

HEMMUNG DER DURCH PHENACETIN UND *p*-PHENETIDIN VERURSACHTEN METHÄMOGLOBIN—BILDUNG DURCH BARBITURATE

H. BÜCH, W. GERHARDS, G. KARACHRISTIANIDIS,
K. PFLEGER und W. RUMMEL

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität des Saarlandes, Homburg, Saar

(Received 19 December 1966; accepted 16 February 1967)

Abstract—In the rat acetophenetidin causes methemoglobinemia, which reaches a plateau in 2 hr. The formation of methemoglobin by acetophenetidin is diminished by barbiturates. In equieffective doses of several barbiturates—phenobarbital, hexobarbital, pernocton® = 5-(2-bromallyl)-5-(1-methyl-propyl)-barbituric acid and eunarcon® = 5-(2-bromallyl)-1-methyl-5-isopropylbarbituric acid—the maximal production of methemoglobin was decreased by 2/3. Inhibition of the metabolic transformation of acetophenetidin may be responsible and consequently the treatment with barbiturates cause an increase in the serum concentration of acetophenetidin. Since the methemoglobin formation induced by *p*-phenetidin was also inhibited by barbiturates, the decline in methemoglobin caused by barbiturates may be due to an inhibition of the *N*-hydroxylation.

DOLL UND HACKENTHAL¹ fanden bei Untersuchungen über die Methämoglobin-Bildung bei der Katze in Pernocton-Narkose nach Verabfolgung von Anilin-Derivaten (z.B. nach Phenacetin) nur relativ niedrige Methämoglobin-Konzentrationen. Wir hingegen erhielten trotz gleicher Phenacetin-Dosis allerdings *ohne* Pernocton-Narkose Methämoglobin-Konzentrationen, die um das Doppelte höher lagen. Erst bei Verisabreichung von Phenacetin in Pernocton-Narkose konnten wir ein mit den Resultaten von Doll und Hackenthal weitgehend übereinstimmendes Ergebnis erzielen. In der untenstehenden Tabelle 1 sind die Methämoglobin-Konzentrationen einander gegenübergestellt.

TABELLE 1. METHÄMOGLOBIN-KONZENTRATION BEI DER KATZE
UNTER PERNOCTON UND PHENACETIN

i.p. 75 mg/kg Phenacetin (Katze)	Prozent Methämoglobin des Gesamthämoglobins		
	Doll und Hackenthal	eigene Versuche	
	mit Pernocton	ohne Pernocton	mit Pernocton 25 mg/kg
180 min nach Applikation	22 (<i>n</i> = 4)	46 (<i>n</i> = 2)	15 (<i>n</i> = 2)

Diese in Pernocton-Narkose stark verringerte Methämoglobin-Entstehung veranlaßte uns, in einer größeren Versuchsreihe zu prüfen, ob die gleichzeitige Verabreichung eines Barbiturates die Bildung von Methämoglobin durch ein Anilin-Derivat

zu hemmen vermag. Als Ursache für diesen Effekt wurde die Möglichkeit in Erwägung gezogen, daß durch Barbiturate die metabolische Elimination der Anilin-Derivate verzögert wird.²

Die Hemmung der metabolischen Umwandlung von Pharmaka durch Stoffe wie SKF 525-A = α, α -Diphenyl- α -propylessigsäure- β' -diäthylaminoäthylester,^{3, 4} CFT 1201 = Phenyldiallylessigsäure- β -diäthylaminoäthylester⁵ oder Lilly 18 947 = 2,4-Dichlor-6-phenylphenoxyäthyl-diäthylamin⁶ ist schon länger bekannt. Weniger geläufig sind dagegen die im folgenden genannten Beispiele einer Abbauhemmung, die einer Arbeit von Kato und Mitarb.⁷ entnommen sind: Glutethimid hemmt, ähnlich wie SKF 525-A, bei Ratten die Elimination von Meprobamat und Chlorcyclizin hemmt die Elimination von Pentobarbital. An gleicher Stelle haben Kato und Mitarb. an einer großen Zahl von Stoff-Kombinationen gezeigt, daß es bei gleichzeitiger Einwirkung von zwei oder mehreren Stoffen häufig zu wechselseitiger Beeinflussung des Abbaus kommt. Es kann daher erwartet werden, daß bei kombinierter Anwendung von Pharmaka noch viele unbekannte Möglichkeiten gegenseitiger Beeinflussung in Erscheinung treten werden, wobei durch Verzögerung der Elimination eines Stoffes durch einen anderen im allgemeinen eine Steigerung und Verlängerung der Wirkung bzw. eine Zunahme seiner Toxizität zu erwarten ist. Die vorliegenden Untersuchungen stellen insofern einen Sonderfall der Auswirkung einer Arzneimittel-Kombination dar, als die Toxizität eines Pharmakons, gemessen an der Methämoglobin-Konzentration im Blut, durch ein gleichzeitig verabreichtes zweites Pharmakon abgeschwächt wird.

METHODIK

Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Für die eingangs erwähnten Versuche (siehe Tabelle 1) wurden erwachsene Katzen mit einem Gewicht zwischen 2 und 3 kg verwendet. Zu allen übrigen Versuchen wurden weibliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von ca. 250 g herangezogen.

Folgende Stoffe wurden verabreicht: Phenacetin, DAB 6 (Farbwerke Hoechst AG), *p*-Phenetidin (freie Base), Phenobarbital = Luminal-Natrium (Farbenfabriken Bayer AG), Hexobarbital = Evipan-Natrium (Farbenfabriken Bayer AG), Pernocton = 5-(2-bromallyl)-5-(1-methyl-propyl)-barbitursäure (Riedel de Haën AG) und Eunarcon = 5-(2-bromallyl)-1-methyl-5-isopropyl-barbitursäure (Riedel de Haën AG). Phenacetin und *p*-Phenetidin wurden 0.5% in 0.9% NaCl-Lösung im Mörser zur Suspension zerrieben. Zur Stabilisierung wurde 0.1% Tragant hinzugefügt. Bei gleichzeitiger Applikation eines Barbiturates wurde dieses in einer Konzentration, die der angegebenen Barbiturat-Dosis entsprach, der Phenacetin- bzw. *p*-Phenetidin-Suspension beigemischt. Die Verabreichung erfolgte in allen Fällen i.p.

Das Blut für die Methämoglobin-Bestimmung wurde den Katzen nach Hautschnitt am Ohr und den Ratten nach Schnitt in eine Sublingualvene entnommen. Zur Bestimmung der Phenacetin-Konzentration im Serum wurde das Blut am Versuchsende durch Herzpunktion in Äthernarkose entnommen.

Bestimmung des Methämoglobins

Die Methode von Havemann und Mitarb.⁸ zur Bestimmung des Methämoglobin-Anteils am Gesamthämoglobin wurde so modifiziert, daß die Messung im Photometer Eppendorf durchgeführt werden konnte.

Vorgehen: 0.2 ml Blut werden sofort in 2.0 ml Aqua bidest. durch kurzes Umschütteln hämolysiert. Anschließend werden die Blutkörperchenfragmente des Hämolysates bei 4500 U/min abgeschleudert (5 min). Das überstehende Hämolysat wird mit 8.0 ml Phosphat-Puffer, pH 6.9 (6.9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 3.8 g KH_2PO_4 in 1000 ml Aqua bidest.) verdünnt. Die Messung erfolgt bei 623 $\text{m}\mu$ im Photometer Eppendorf. Hierzu werden von dem gepufferten Hämolysat je 2.5 ml in 2 Glasküvetten ($d = 1.0$ cm) gegeben. Nach Prüfung der Extinktionsgleichheit beider Küvetten wird das Photometer auf die Extinktionsmarke 0.20 anstelle auf 0.00 eingestellt. Sodann wird in die eine Küvette 1 Tropfen einer 10% $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ -Lösung und in die andere 1 Tropfen einer 10% KCN-Lösung gegeben und anschließend mit Glasstäbchen umgerührt. Die Extinktionsabnahme ($0.20 - a$) nach Zugabe von KCN ist ein Maß für die Methämoglobin-Konzentration (a = Photometerausgang nach Zugabe von KCN). Diese Extinktionsabnahme entsteht dadurch, daß $\text{Fe}^{\text{III}} - \text{Hb}$ durch KCN zu CN-Hb umgesetzt wird, das gegenüber $\text{Fe}^{\text{III}} - \text{Hb}$ bei 623 $\text{m}\mu$ weniger Licht absorbiert. In der anderen Küvette wird durch Zugabe von $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ das $\text{Fe}^{\text{II}} - \text{Hb}$ in $\text{Fe}^{\text{III}} - \text{Hb}$ übergeführt. Die meßbare Extinktionszunahme (b) ist ein Maß für das Gesamthämoglobin.

Berechnung:
$$\frac{(0.20 - a) \cdot 100}{b - a} = \% \text{ Methämoglobin bezogen auf das Gesamthämo-}$$

globin. Die bei Doppelbestimmungen auftretende Streuung liegt unter $\pm 2\%$.

Bestimmung des Phenacetins im Serum

Die Methode ist an anderer Stelle ausführlich beschrieben.⁹ Das Phenacetin wurde durch Extraktion mit Äther von den Serumproteinen abgetrennt. Gleichzeitig im Serum vorliegende Barbiturate wurden nach der Extraktion durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel von Phenacetin getrennt. Die mit dem Fließmittel Dichloräthan/Essigsäureäthylester/98%. Ameisensäure (60:20:20) erhaltenen R_f -Werte der in Frage kommenden Substanzen sind die folgenden: Phenacetin = 0.80, Phenobarbital = 0.91 und Pernocton = 0.95.

ERGEBNISSE

Hemmung der Methämoglobin-Bildung durch gleichzeitige Verabreichung eines Barbiturates

Die Versuche wurden an Ratten durchgeführt. Phenacetin wurde in einer Dosis von 100 mg/kg verabreicht. Bei dieser Dosis war nach 120 min die Methämoglobin-Konzentration im Blut (Tabelle 2, I) mit rund 27% am höchsten und fiel während der nachfolgenden 60 min auf 24% leicht ab. Durch gleichzeitige Gabe von 75 mg/kg Phenobarbital^(II) läßt sich zu den Zeitpunkten 30, 60 und 120 min eine signifikante Verringerung der Methämoglobin-Konzentration erzielen. Bei Erhöhung der Phenobarbital-Dosis auf 150 mg/kg^(III) tritt dieser Effekt nach 120 bzw. 180 min noch deutlicher in Erscheinung.

Hemmung der Methämoglobin-Bildung durch andere Barbiturate

Die Wirksamkeit von 100 mg/kg Hexobarbital (Tabelle 2, IV) hinsichtlich der Senkung der Methämoglobin-Konzentration liegt zwischen der von 75 und 150 mg/kg Phenobarbital. Pernocton und Eunarcon (jeweils 50 mg/kg) hemmen die Methämoglobin-Bildung viel stärker als Phenobarbital und Hexobarbital (Tabelle 2, V und VI).

TABELLE 2. METHÄMOGLOBIN IN PROZENT DES GESAMTHÄMOGLOBINS NACH I.P. GABE VON 100 MG/KG PHENACETIN UND GLEICHZEITIGER I.P. VERABREICHUNG VON BARBITURATEN BEI RATTEN

Minuten nach Appli- kation	I 100 mg/kg Phenacetin (= Kontrollen)	II 100 mg/kg Phenacetin + 75 mg/kg Phenobarbital	III 100 mg/kg Phenacetin + 150 mg/kg Phenobarbital	IV 100 mg/kg Phenacetin + 100 mg/kg Hexobarbital	V 100 mg/kg Phenacetin + 50 mg/kg Pernoceton	VI 100 mg/kg Phenacetin + 50 mg/kg Eunarcon
30	8.9 ± 2.4 n = 13	4.2 ± 1.9* n = 6	3.4 ± 2.1* n = 9	5.0 ± 0.2* n = 7	3.1 ± 1.2* n = 14	3.2 ± 0.7* n = 8
60	20.2 ± 3.5 n = 13	9.5 ± 2.9* n = 6	8.8 ± 2.5* n = 12	9.4 ± 1.6* n = 7	5.5 ± 2.7* n = 17	5.2 ± 0.7* n = 8
120	26.6 ± 4.0 n = 13	17.8 ± 2.9* n = 6	11.1 ± 3.4* n = 10	15.1 ± 1.7* n = 7	7.4 ± 3.8* n = 14	6.8 ± 1.9* n = 8
180	24.3 ± 5.6 n = 13	18.8 ± 2.4 n = 6	7.0 ± 5.6* n = 11	13.3 ± 2.9* n = 7	5.5 ± 4.5* n = 14	7.2 ± 2.0* n = 8

* Unterschied gegenüber den Kontrollen; P < 0.005.

Phenacetin-Konzentration im Serum

Im folgenden haben wir uns die Frage gestellt, ob die Hemmung der Methämoglobin-Bildung durch Barbiturate bei der Ratte insoweit durch die Art der Versuchsanordnung bedingt sein könnte, als das zusammen mit dem Phenacetin i.p. verabreichte Barbiturat möglicherweise die Resorption des Phenacetins hemmt. Zur Beantwortung dieser Frage wurde der zeitliche Verlauf der Serum-Konzentration des Phenacetins verfolgt. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse dieser Messungen wiedergegeben. Es zeigt sich, daß nach 100 mg/kg Phenacetin und gleichzeitiger Gabe von 150 mg/kg Phenobarbital der Ausgangspunkt der Serum-Konzentration bei 30 min (Tabelle 3, III) mit 59 µg/ml Serum praktisch gleich dem der Kontrolltiere ist, während nach gleichzeitiger Gabe von 50 mg/kg Pernocton (Tabelle 3, V) bereits eine leichte Erhö-

TABELLE 3. PHENACETIN-KONZENTRATION IM SERUM (µG/ML) NACH I.P. 100 MG/KG PHENACETIN UND GLEICHZEITIGER I.P. VERABREICHUNG VON BARBITURATEN BEI RATTEN

Minuten nach Applikation	I 100 mg/kg Phenacetin (= Kontrollen)	III 100 mg/kg Phenacetin + 150 mg/kg Phenobarbital	V 100 mg/kg Phenacetin + 50 mg/kg Pernocton
30	62 ± 13 n = 8	59 ± 6 n = 4	71 ± 9 n = 7
60	37 ± 8 n = 10	60 ± 3** n = 8	67 ± 12** n = 10
120	25 ± 7 n = 8	48 ± 17* n = 5	42 ± 10** n = 7
180	20 ± 10 n = 8	28 ± 6 n = 6	22 ± 19 n = 7

* Unterschied gegenüber den Kontrollen.: $P < 0.02$ bzw.

** $P < 0.005$.

hung erkennbar ist. Im weiteren Verlauf unterscheidet sich dann die Phenacetin-Konzentration sowohl bei den Phenobarbital—wie auch bei den Pernocton-Tieren signifikant von den Kontrollen. Für die Pernocton-Gruppe sind die Verhältnisse sowohl hinsichtlich der Beeinflussung des Kurvenverlaufs der Methämoglobin-Konzentration im Blut wie auch der Phenacetin-Konzentration im Serum in Abb. 1 und 2 dargestellt (s.S. 006). Während die Halbwertszeit bei den Kontrolltieren nach 60 min schon fast erreicht ist, fällt die Phenacetin-Konzentration im Serum der Barbiturat-Tiere sehr viel langsamer ab und erreicht die Hälfte des Ausgangswertes erst im Zeitraum zwischen 120 und 180 min. Die Eliminationsgeschwindigkeit wird also durch das Barbiturat zeitweise auf mehr als die Hälfte herabgesetzt.

Methämoglobin-Bildung nach Gabe von p-Phenetidin und deren Beeinflussung durch Pernocton

In den folgenden Untersuchungen wurde das freie Amin, nämlich *p*-Phenetidin, das *in vivo* wie *in vitro* der Vorläufer der für die Methämoglobin-Bildung verantwortlichen Metaboliten ist,^{10, 11} verabreicht. Da nach *p*-Phenetidin, wie zu erwarten war, mehr Methämoglobin gebildet wird als nach Phenacetin, wurde es niedriger dosiert

(50 mg/kg). Diese Dosis ist aber immer noch relativ hoch, wenn man sich vor Augen hält, daß Phenacetin auch bei hoher Dosierung zu weniger als 1 % zu *p*-Phenetidin desacetyliert wird.^{10, 11} Die Ergebnisse der Methämoglobin-Bestimmung mit und ohne gleichzeitige Verabreichung von 50 mg/kg Pernocton sind in Tabelle 4 wiedergegeben (s.S. 007). Das Resultat besagt, daß Pernocton auch die sehr starke Methämoglobin-Bildung nach Gabe von *p*-Phenetidin um mehr als 50 % zu hemmen vermag.

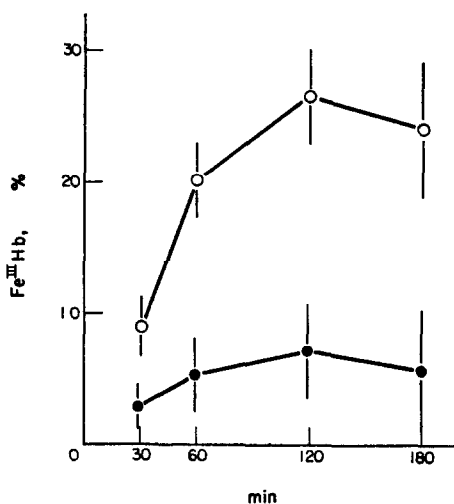


ABB. 1. Methämoglobin in Prozent des Gesamthämoglobins nach 100 mg/kg Phenacetin ○—○ (= Kontr.) und nach gleichzeitiger Gabe von 50 mg/kg Pernocton ●—●.
(Anzahl der Versuche und Signifikanz siehe Tabelle 2)

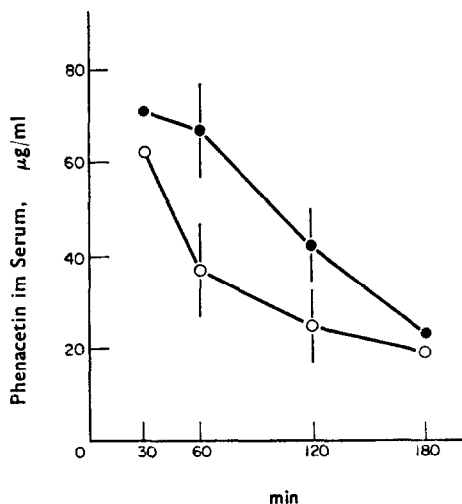


ABB. 2. Phenacetin-Konzentration im Serum nach 100 mg/kg Phenacetin ○—○ (= Kontr.) und nach gleichzeitiger Gabe von 50 mg/kg Pernocton ●—●.
(Anzahl der Versuche und Signifikanz siehe Tabelle 3).

DISKUSSION

Bei der Katze und bei der Ratte wurde eine niedrigere Methämoglobin-Konzentration im Blut gefunden, wenn gleichzeitig ein Barbiturat verabreicht wurde. Der gleiche Effekt, Hemmung der Methämoglobin-Bildung, ließ sich bei der Ratte auch nach gleichzeitiger Anwendung von *p*-Phenetidin und einem Barbiturat (Pernocton)

TABELLE 4. METHÄMOGLOBIN IN PROZENT DES GESAMTHÄMOGLOBINS NACH I.P. GABE VON 50 MG/KG *p*-PHENETIDIN UND GLEICHZEITIGER I.P. VERABREICHUNG VON PERNOCTON BEI RATTEN

Minuten nach Applikation	50 mg/kg <i>p</i> -Phenetidin (= Kontrollen)	50 mg/kg <i>p</i> -Phenetidin + 50 mg/kg Pernocton
30	47.6 ± 5.6	42.4 ± 10.2
60	43.0 ± 7.0	28.2 ± 7.2**
120	25.0 ± 6.7	13.1 ± 4.2**
180	14.7 ± 7.3	5.6 ± 2.7*
<i>n</i>	8	6

* Unterschied gegenüber den Kontrollen: $P < 0.05$ bzw.

** $P < 0.025$.

nachweisen. Eine Hemmung der Desacetylierung durch Barbiturate kann demnach als alleinige Ursache für die verminderte Methämoglobin-Entstehung nach Phenacetin ausgeschlossen werden.

Die erhöhte Phenacetin-Konzentration im Serum der Barbiturat-Tiere legt den Schluß nahe, daß neben der *N*-Hydroxylierung sicher auch andere Abbauvorgänge wie vor allem die *O*-Desalkylierung und u.U. auch die Konjugation gehemmt sind, also Schritte, die in weit größerem Umfang als die Desacetylierung bei der metabolischen Umwandlung des Phenacetins eine Rolle spielen. In Analogie hierzu stehen die Befunde von Conney und Mitarb. an der Ratte,^{12, 13} daß die *O*-Desalkylierung des Phenacetins durch SKF 525-A sowohl *in vivo* wie auch *in vitro* hemmbar sind.

Den augenblicklichen Kenntnissen entsprechend gehen der Methämoglobin-Bildung durch Phenacetin folgende Umwandlungen am Phenacetin-Molekül voraus: Nach Desacetylierung durch die Krisch'sche mikrosomale Leber-Esterase^{14, 15, 16, 17} erfolgt die Oxydation am Stickstoff durch mikrosomale Hydroxylasen,¹⁸ wobei *p*-Äthoxy-phenyl-hydroxylamin und *p*-Äthoxy-nitrosobenzol entstehen. Beide Metaboliten sind *in vivo* und *in vitro* starke Methämoglobin-Bildner.^{19, 20, 21} Sie sind allerdings *in vivo* im Serum bzw. im Blut nach Gabe von Phenacetin bis jetzt nicht direkt nachgewiesen worden. Das wird z.T. darauf beruhen, daß diese Verbindungen sehr labil und flüchtig sind, mit Eiweiß leicht reagieren und sich so der Erfassung weitgehend entziehen. Nachweis und Bestimmung dieser Substanzen sind deshalb schwierig. Aus Anilin entstandenes Nitrosobenzol wurde *in vivo* von Kiese²² nachgewiesen und bestimmt. Später ließen sich dann auch *in vitro* (Leberhomogenat und Lebermikrosomen) sowie mit der isoliert durchströmten Leber *N*-Oxydationsprodukte von Anilin und einigen substituierten Anilin-Derivaten nachweisen.^{18, 23, 24} Unter diesen Bedingungen *in vitro* wurde auch die Frage der Hemmung der *N*-Hydroxylierung geprüft. Uehleke konnte zeigen, daß SKF 525-A beispielsweise, ein typischer Hemmstoff für die durch Mikrosomen katalysierten Oxydationen, keinen Einfluß auf die *N*-Oxydation

hat.^{23, 24, 25} Ob Barbiturate einen inhibitorischen Einfluß auf die *N*-Hydroxylierung ausüben, wurde—soweit uns bekannt ist—noch nicht untersucht.

Es gibt jedoch bereits Hinweise dafür, daß Barbiturate auch *in vitro* bei mikrosomalen Oxydationen als Hemmstoffe eine Rolle spielen können:

(1) So beobachtete beispielsweise Remmer²⁶ nach Applikation von Phenobarbital an Ratten, daß deren Lebermikrosomen bis zu 4 Stunden nach der letzten Barbituratverabreichung eine deutlich verminderte Aktivität hinsichtlich der Umsetzung von Hexobarbital zu Ketoheobarbital aufwiesen.

(2) Die alkylierten Phosphorsäureester Schradan und Dimefox werden durch mikrosomale Umwandlungsvorgänge (wahrscheinlich Hydroxylierung) in Cholinesterase-Inhibitoren umgewandelt.^{26, 28, 29} Barbiturate können diesen Vorgang *in vitro* hemmen.^{29, 30}

Inwieweit die hier *in vivo* am Tier gefundene Hemmung der Entstehung von Methämoglobin nach Phenacetin und *p*-Phenetidin tatsächlich auf einer Hemmung der *N*-Hydroxylierung durch Barbiturate beruht, kann durch diese Untersuchungen nicht entschieden werden. Die endgültige Entscheidung muß nachfolgenden Untersuchungen überlassen werden.

Die Versuche haben ergeben, daß die Toxizität von Anilin-Derivaten gemessen an der Methämoglobin-Konzentration durch *gleichzeitige* Verabfolgung von Barbituraten um 2/3 verringert werden kann. Da sich auch das umgekehrte, nämlich eine Steigerung der Toxizität durch *vorausgehende* Anwendung von Barbituraten—eine Folge ihres induktiven Effektes—zeigen ließ,³¹ liegt hier ein Beispiel dafür vor, daß ein Pharmakon die Toxizität eines anderen je nach den Anwendungsbedingungen infolge unterschiedlicher Beeinflussung des Metabolismus sowohl *abschwächen* als auch *steigern* kann.

Zusammenfassung—Bei Ratte und Katze läßt sich die Methämoglobin-Bildung unter Phenacetin durch gleichzeitig applizierte Barbiturate beträchtlich verringern. Die Methämoglobin-Konzentration beträgt bei Ratten nach Verabreichung von Phenacetin (100 mg/kg) zusammen mit Pernoceton bzw. Eunarcon (50 mg/kg) nur etwa 1/3 derjenigen bei den Kontrolltieren.

Die erhöhte Phenacetin-Konzentration im Serum der mit Barbituraten behandelten Tiere deutet darauf hin, daß die metabolische Umwandlung des Phenacetins gehemmt ist.

Auch nach Gabe von *p*-Phenetidin wird die Entstehung von Methämoglobin durch Barbiturate verringert. Es wird angenommen, daß die verringerte Methämoglobin-Bildung durch eine Hemmung der *N*-Hydroxylierung zustandekommt.

LITERATUR

1. G. DOLL und E. HACKENTHAL, *Arzneimittelforsch.* **13**, 68 (1963).
2. H. BÜCH, W. RUMMEL, K. PFLEGER und G. KARACHRISTIANIDIS, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **247**, 378 (1964).
3. L. COOK, J. J. TONER and E. J. FELLOWS, *J. Pharmac. exp. Ther.* **111**, 131 (1954).
4. J. AXELROD, J. REICHENTHAL and B. B. BRODIE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **112**, 49 (1954).
5. D. NEUBERT und H. HERKEN, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **225**, 453 (1955).
6. J. R. FOUTS and B. B. BRODIE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **115**, 68 (1955).
7. R. KATO, E. CHIESARA and P. VASANELLI, *Biochem. Pharmac.* **13**, 69 (1964).
8. R. HAVEMANN, F. JUNG und B. VON ISSEKUTZ, *Hinsberg-Lang, Medizinische Chemie*, Urban-Schwarzenberg, München und Berlin (1957).
9. H. BÜCH, K. PFLEGER und W. RÜDIGER, *Z. klin. Chem.* im Druck (1967).
10. B. B. BRODIE and J. AXELROD, *J. Pharmac. exp. Ther.* **97**, 58 (1949).

11. J. N. SMITH and R. T. WILLIAMS, *Biochem. J.* **44**, 239 (1949).
12. A. H. CONNEY, M. SANSUR, F. SOROKO, R. KOSTER and J. J. BURNS, *J. Pharmac. exp. Ther.* **151**, 133 (1966).
13. J. J. BURNS and A. H. CONNEY, *Proc. Eur. Soc. Study Drug Toxicity* **6**, 76 (1965).
14. K. KRISCH, *Biochem. Z.* **337**, 531 (1963).
15. K. KRISCH, *Biochem. Z.* **337**, 546 (1963).
16. E. BERNHAMMER und K. KRISCH, *Biochem. Pharmac.* **14**, 863 (1965).
17. H. C. BENÖHR, W. FRANZ und K. KRISCH, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **255**, 163 (1966).
18. M. KIESE und H. UEHLEKE, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **242**, 117 (1961).
19. K. PFLEGER, W. RUMMEL, E. SEIFEN und W. ROTTMANN, *Med. exp.* **6**, 105 (1962).
20. W. ROTTMANN, Dissertation der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes (1966).
21. H. BAADER, S. GIRGIS, M. KIESE, H. MENZEL und L. SKROBOT, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **241**, 317 (1961).
22. M. KIESE, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **235**, 354 (1959).
23. H. UEHLEKE, *First Int. pharmal. Meet.* Stockholm 1961, (Eds. B. B. BRODIE und E. G. ERDÖS), vol. 6. Pergamon Press, Oxford.
24. H. UEHLEKE, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **241**, 150 (1961).
25. H. UEHLEKE, *Prog. Drug Res.* **8**, 210 (1965).
26. H. REMMER, *First Int. Pharmal. Meet.* Stockholm 1961, (Eds. B. B. BRODIE und E. G. ERDÖS), vol. 6. Pergamon Press, Oxford.
27. A. N. DAVISON, *Nature, Lond.*, **174**, 1056 (1954).
28. J. E. CASIDA, T. C. ALLEN and M. A. STAHMANN, *J. biol. Chem.* **210**, 607 (1954).
29. M. L. FENWICK, J. R. BARRON and W. A. WATSON, *Biochem. J.* **65**, 58 (1957).
30. A. VARDANIS, *Biochem. Pharmac.* **15**, 749 (1966).
31. H. BÜCH, W. GERHARDS, K. PFLEGER, W. RÜDIGER und W. RUMMEL, *Biochem. Pharmac.* **16**, 1585 (1967).