

Untersuchungen über bakteriostatische Chinone und andere Antibiotica.

III. Mitteilung: Versuche über die durch verschiedene Benzoehinon- und Naphthochinonderivate verursachte Methämoglobinbildung *in vitro*.

Von

O. Hoffmann-Ostenhof, W. Weis und O. Kraupp.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium und dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 18. April 1946. Vorgelegt in der Sitzung am 27. Juni 1946.)

Einleitung.

In den ersten Mitteilungen dieser Reihe haben wir über die Hemmung der Aktivität der Urease¹ und der Blutkatalase² durch verschiedene Antibiotica und insbesondere durch verschieden substituierte Benzoehinon- und Naphthochinonderivate berichtet. Wir sind zur Zeit dabei, auch weitere Fermentsysteme auf ihre Hemmbarkeit durch die genannten Substanzen zu prüfen. Wir haben diese Versuche angestellt, um zu untersuchen, ob die durch diese Antibiotica verursachte antibakterielle Wirkung in einem kausalen Zusammenhang mit der denselben Stoffen zukommenden Inhibitorwirkung gegenüber den erwähnten Fermentssystemen steht.

Zur Klärung dieser Frage ordneten wir die Intensitäten der fermenthemmenden Wirkung der einzelnen Substanzen und diejenigen der antibakteriellen Wirkung derselben Substanzen nach ihrer Größe in Reihen und verglichen diese miteinander. Wenn in beiden Reihen dieselben Substanzen die stärksten Wirkungen zeigten und die Reihenfolge der verschiedenen Antibiotica eine weitgehende Übereinstimmung erkennen

¹ O. Hoffmann-Ostenhof und W. H. Lee, Mh. Chem. **76**, 180 (1946).

² O. Hoffmann-Ostenhof und E. Biach, Mh. Chem. **76**, 319 (1947).

ließe, so wäre der Schluß erlaubt, daß die antibakterielle Wirkung ihre Ursache in der Hemmung des geprüften Fermentsystems hat.

Schon einige Zeit vor unseren Versuchen haben *R. Kuhn* und *H. Beinert* die Hemmwirkung verschiedener bakteriostatisch wirksamer Chinone auf Carboxylase geprüft und *K. Wallenfels*³, der über diese Arbeiten berichtet, hat auf Grund einiger vorhandener Parallelismen auf einen engen Zusammenhang zwischen anticarboxylatischer und bakteriostatischer Wirkung geschlossen. Wir können uns dieser Meinung nicht anschließen, da die Übereinstimmung in der von *Wallenfels* veröffentlichten Tabelle der anticarboxylatischen Wirkung der Chinone mit den in derselben Arbeit referierten Tabellen der bakteriostatischen Wirkung uns in Anbetracht der Unstimmigkeiten bei verschiedenen Substanzen nicht überzeugend erscheint. So zeigen das p-Benzochinon und das 2-Chlornaphthochinon, deren antibakterielle Wirkung sehr gering ist, starke Carboxylasehemmung.

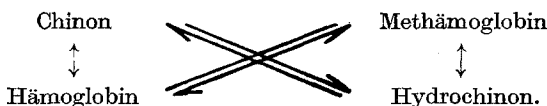
Bei unseren Versuchen konnten wir überhaupt keine Übereinstimmung zwischen der fermenthemmenden und der antibiotischen Wirkung feststellen. Wir glauben deshalb annehmen zu müssen, daß die antibakterielle Wirkung in keinem ursächlichen Zusammenhang mit den bisher geprüften Hemmeffekten gegenüber Urease, Katalase und auch Carboxylase steht. Damit wollen wir durchaus nicht die Hypothese ablehnen, daß die antibakterielle Wirkung der Chinone auf der Hemmung eines für den Bakterienstoffwechsel notwendigen Fermentsystems beruht; es ist durchaus möglich, daß der Mechanismus der antibakteriellen Wirkung der Chinone die Folge der Hemmbarkeit eines anderen Fermentsystems als der genannten ist.

Wir konnten bei unseren Versuchen aber auch eine andere Feststellung machen. Sowohl bei der Urease als auch bei der Katalase konnten wir eine gewisse Parallelität zwischen der Hemmwirkung von Chinonen und ihrem Oxydations-Reduktionspotential beobachten. Diese Übereinstimmungen gelten allerdings nicht für die gesamte Reihe von Chinonen, sondern lassen sich nur in Gruppen von Chinonen ähnlicher Konstitution feststellen. Völlig aus der Reihe fallen Substanzen mit stärker abweichendem Bau, wie z. B. das 1,2-Naphthochinon, das einzige auf seine Fermentwirkung geprüfte Orthochinon, welches eine viel höhere Hemmwirkung zeigt, als ihm auf Grund seines Redoxpotentials zukommen sollte. Immerhin läßt sich eine gewisse Übereinstimmung zwischen Inhibitorwirkung und Redoxpotential feststellen. Dies gilt nur für die Systeme der Urease und Katalase; bei der von *Kuhn* und *Beinert* auf ihre Hemmbarkeit durch Chinone untersuchten Carboxylase besteht anscheinend überhaupt keine Übereinstimmung zwischen Hemmwirkung und Redoxpotential.

³ Chemie 58, 1 (1945).

Um die Frage des Einflusses des Redoxpotentials auf die biochemische Wirkung verschiedener Chinone weiter zu prüfen, haben wir uns nunmehr die Aufgabe gestellt, die Methämoglobinbildung durch die verschiedenen Chinonderivate zu untersuchen, einen biochemischen Prozeß, bei dem dem Redoxpotential ohne Zweifel eine bedeutsame Rolle zukommen muß, da es sich hier ja um die Oxydation des im Hämoglobin eingebauten zweiwertigen Eisens zu dreiwertigem Eisen handelt.

Die Methämoglobinbildung durch Benzochinon wurde besonders im Laboratorium von *W. Heubner*, aber auch von anderen Autoren bereits ausführlich bearbeitet. In einem Referat über Methämoglobinbildung führt *W. Heubner*⁴ die Reaktion des Hämoglobins mit dem Chinon auf das Bestehen einer Spannung zwischen zwei Redoxsystemen zurück, die er mit folgendem Bild symbolisiert:



Die Bedingungen für die Bildung des rechtsstehenden Paares werden mit zunehmender Wasserstoffionenkonzentration günstiger, was vermutlich mit der gleichgerichteten Zunahme des Redoxpotentials des Chinon-Hydrochinonsystems im Zusammenhang steht. Über die quantitativen Zusammenhänge der Methämoglobinbildung durch p-Benzochinon hat *R. Meier*⁵ mit spektroskopischen und gasometrischen Methoden Untersuchungen angestellt; er vergleicht die Wirkung des Chinons mit derjenigen des Ferricyankaliums und findet, daß bei $p_{\text{H}} = 5$ Chinon fast genau so stark mit Hämoglobin reagiert wie Ferricyankalium, während bei neutraler Reaktion ein zehnfacher Überschuß von Chinon notwendig ist, um 90% der Wirksamkeit des Ferrikomplexes zu erreichen.

Wir überlegten nun, daß, da wir ja bei den Chinonen nach *O. Dimroth*⁶ eine annähernd dynamisch homologe Reihe vor uns haben, die Reaktionsfähigkeit der Chinone der von *Dimroth* angegebenen Formel

$$\log \frac{k_2}{k_1} = m (E_2 - E_1)$$

entsprechen müßte. In dieser Formel bedeuten hier k_1 und k_2 die Gleichgewichtskonstanten

$$k = \frac{[\text{Met} - \text{Hb}] \cdot [\text{Hydrochinon}]}{[\text{Hb}] \cdot [\text{Chinon}]}$$

für die beiden zu vergleichenden Chinone, E_1 und E_2 die Redoxpotentiale, die ja für die meisten Chinone bekannt sind und schließlich m einen konstanten Proportionalitätsfaktor.

⁴ *Ergebn. Physiol. Physiol., biol. Chem. exp. Pharmakol.* **43**, 9 (1940).

⁵ *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmakol.* **108**, 280 (1925).

⁶ *Z. Angew. Chem.* **46**, 571 (1933).

Bei unseren Versuchen kam es daher darauf an, möglichst Bedingungen zu finden, bei denen wir vergleichbare Gleichgewichte erhalten konnten. Wir versprachen uns davon eine Wirkungsreihe der verschiedenen Chinone, die uns Aufklärung über die Rolle des Redoxpotentials bei der Methämoglobinbildung geben sollten; weiters auch Parallelen zu den Wirkungsreihen der Chinone bei den besprochenen Fermentsystemen, womit wir auch zur Erklärung des Wirkmechanismus der Fermenthemmung einen Beitrag leisten wollten. Schließlich erschien uns das Problem auch vom pharmakologischen und toxikologischen Standpunkt aus interessant, da ja beispielsweise die Vitamin-K-Präparate sämtlich Naphthochinonderivate sind, und man auch daran denken könnte, die starke antibakterielle Wirkung von Substanzen wie dem 4-Methoxytoluchinon oder dem Methyl-naphthazarin therapeutisch auszunützen.

Methodik.

Nach einer Arbeit von *W. Heubner*⁷ ist Hunde- oder Katzenblut das geeignetste Medium zum Studium der Methämoglobinbildung. Wir verwendeten daher Hundeblood, das wir aus einer Beinvene entnahmen. Die Wirkung der Chinone wurde sowohl an durch Hämolyse freigesetztem Hämoglobin als auch an unversehrten Erythrozyten untersucht.

Zur Hämolyse wurden 20 ccm Blut sofort nach der Entnahme mit destilliertem Wasser auf 500 ccm verdünnt und nach 10 Minuten Stehen zur vollständigen Klärung zentrifugiert. 12,5 ccm des Hämolysats wurden in einen Meßkolben zu 50 ccm gegeben, dazu setzte man 5 ccm Phosphatpuffer ($p_H = 6,8$), eine abgemessene Menge der zu untersuchenden Chinonlösung (bei den meisten Versuchen $6 \cdot 10^{-6}$ g-Mol des entsprechenden Chinons in Äthylalkohol gelöst) und füllte mit destilliertem Wasser auf. Alle Flüssigkeiten waren vor der Mischung auf die Versuchstemperatur gebracht worden; die Meßkolben mit der Mischung blieben bis zur kolorimetrischen Bestimmung temperaturkonstant. Die Versuchstemperaturen waren 9° und 20° , die erstere Temperatur erhielten wir konstant durch Einstellen der Gefäße in fließendes Leitungswasser, zur Einstellung auf 20° wurde ein Thermostat verwendet.

Zur Untersuchung der Wirkung auf unversehrte Erythrozyten wurden 10 ccm Blut mit physiologischer Kochsalzlösung auf 250 ccm verdünnt. Davon wurden 12,5 ccm in einen Meßkolben zu 50 ccm gegeben, dazu setzte man 5 ccm Phosphatpuffer, eine abgemessene Menge der zu untersuchenden Chinonlösung und füllte mit physiologischer Kochsalzlösung auf. Da die kolorimetrische Messung nur an hämolysiertem Blut möglich ist, mußten wir nach der vorgesehenen Einwirkungszeit die Erythrozyten hämolysieren. Um aber bei der Hämolyse eine Reaktion der Chinone

⁷ J. Pharmacol. exp. Therapeut. **30**, 273 (1927).

mit dem freigesetzten Hämoglobin auszuschließen, wurden die Erythrozyten vor der Hämolyse in der Zentrifuge dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und dann erst hämolysiert. Das Hämolysat mußte neuerdings mit Phosphatpuffer versetzt und mit destilliertem Wasser auf das ursprüngliche Volumen von 50 ccm gebracht werden.

Das entstandene Methämoglobin wurde in einem photoelektrischen Kolorimeter nach *R. Havemann*⁸ nach einer Vorschrift von *R. Havemann*, *F. Jung* und *B. v. Issekutz jun.*⁹, die in weniger wesentlichen Teilen nach persönlichen Mitteilungen von *R. Havemann* abgeändert war, gemessen. Die Methode beruht auf folgender Überlegung: Neutrales und saures

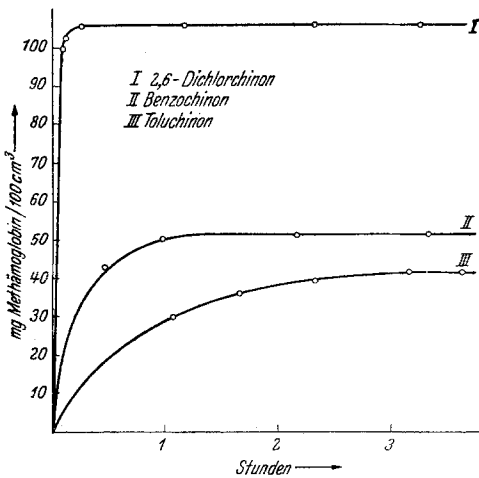


Abb. 1.

Methämoglobin zeigen im Rot einen Absorptionsstreifen, dessen Maximum bei $\lambda = 630 \text{ m}\mu$ liegt. Im gleichen Teil des Spektrums haben weder Oxyhämoglobin noch Cyanmethämoglobin eine nennenswerte Absorption. Nach Zusatz einiger Tropfen einer konzentrierten Lösung von Kaliumcyanid zu einer Methämoglobinlösung muß also die vor dem Zusatz gemessene Absorption praktisch völlig verschwinden. Die Größe der Differenz der Meßwerte vor und nach Zusatz des Kaliumcyanids gibt ein Maß für die Konzentration an Methämoglobin in der Lösung. Diese Differenz ist von der Gesamtkonzentration des Hämoglobins in der Lösung unabhängig und wird auch durch die Anwesenheit anderer Farbstoffe kaum gestört. Der Wert der Methode wird noch dadurch erhöht, daß die Farbreaktion mit Kaliumcyanid für Methämoglobin spezifisch ist. Es ist allerdings notwendig, daß die Messung im roten Spektralbereich erfolgt, weshalb alles Licht mit Wellenlängen unter $605 \text{ m}\mu$ durch Zwischenschalten geeigneter Filter ausgeschlossen werden muß. Wir verwendeten die auch von *Havemann* angegebenen Filter OG_3 , 2 mm und RG_1 , 2 mm (*Schott*).

Für quantitative Bestimmungen ist die Aufstellung einer Eichkurve unter Verwendung des mit Phosphatpuffer versetzten 1 : 100 verdünnten Bluthämolysats notwendig. Diesem werden berechnete Mengen Kalium-

⁸ Biochem. Z. **301**, 105 (1939); **306**, 224 (1940).

⁹ Biochem. Z. **306**, 224 (1940).

ferricyanid zugesetzt. Grundlage: 1 Mol Kaliumferricyanid Mol.-G. = 329) bewirkt die Umwandlung von 1 Mol Hämoglobin (Mol.-G. = 17000) in Methämoglobin.

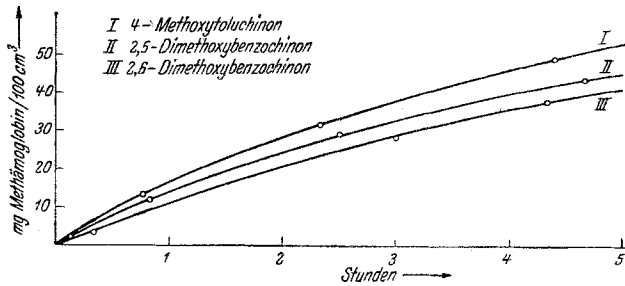


Abb. 2.

Die Bestimmung des Methämoglobingehaltes der mit verschiedenen Chinonen versetzten Blutproben wurde in verschiedenen Zeitabständen nach Zusatz des Chinons vorgenommen (einige Minuten bis 5 Stunden).

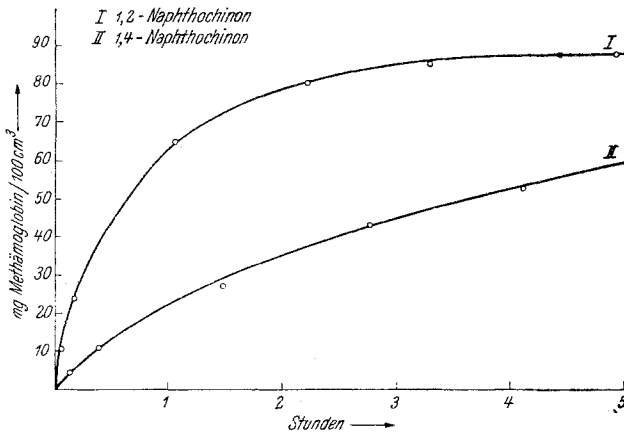


Abb. 3.

Die im Kolorimeter festgestellte Differenz der Absorption vor und nach Zusatz einiger Tropfen Kaliumcyanidlösung ergab an Hand der Eichkurve den Methämoglobingehalt.

Ergebnisse und Diskussion.

Unsere Absicht, möglichst gut vergleichbare Werte zu erhalten, konnten wir nicht in vollem Umfange verwirklichen. Trotz einer Anzahl von Versuchen gelang es nicht, Bedingungen zu finden, bei welchen alle

geprüften Substanzen ein stabiles Gleichgewicht zwischen Hämoglobin und Methämoglobin verursachten.

Die Standardblutlösung, die zur Anwendung gelangte, enthielt bei Annahme des Äquivalentgewichtes von Hämoglobin mit 17000 $0,8 \cdot 10^{-4}$ Äquivalente Hämoglobin im Liter, während es sich zur Erreichung des Gleichgewichtes am günstigsten erwies, die Chinone in dreifachem Überschuß zuzusetzen. Entsprechend der Annahme, daß 1 Mol Chinon theoretisch in der Lage ist, 2 Äquivalente Hämoglobin zu oxydieren, wurden daher $1,2 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter Chinon angewandt. Alle Chinone wurden in der Vergleichsreihe in Alkohol gelöst zugegeben; weiter unten werden wir über den Einfluß des Alkoholzusatzes auf die Methämoglobinbildung berichten.

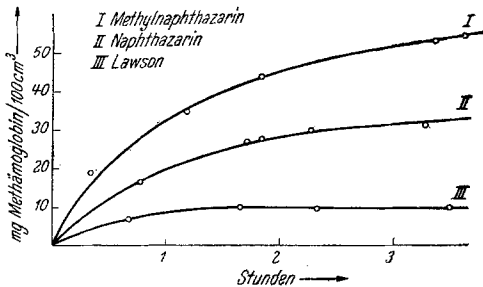


Abb. 4.

Das p_H war bei sämtlichen Versuchen durch den Zusatz einer Phosphatpufferlösung von $p_H = 6,8$ bestimmt. In der Vergleichsreihe arbeiten wir bei einer Temperatur von 9° ; es wurden aber auch einige Versuche bei 20° durchgeführt.

Zur Veranschaulichung unserer Resultate geben wir unsere Messungen in Zeit-Konzentrationsdiagrammen wieder. Abb. 1 zeigt die Methämoglobinbildung durch Benzochinon, Toluchinon und 2,6-Dichlorchinon unter den beschriebenen Bedingungen. Es wurden gut reproduzierbare Gleichgewichte erhalten; die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion scheint von der Höhe der Gleichgewichtskonzentration an Methämoglobin abhängig zu sein. In Abb. 2 bringen wir die Methämoglobinbildung durch drei Methoxyderivate des Benzochinons; Gleichgewichte wurden nicht erreicht, die Kurven verlaufen fast linear. Nicht in den Kurven scheint von den Derivaten des Benzochinons das Trichlormethylchinon auf, dessen Kurvenverlauf noch steiler ist als der des 2,6-Dichlorchinons; es oxydiert das gesamte in der Lösung befindliche Hämoglobin, und der erreichte Endwert an Methämoglobin (136 mg/100 ccm) ist daher nur als Mindestwert zu betrachten. Die Chloranilsäure (2,5-Dichlor-3,6-dioxy-Benzochinon) zeigt überhaupt keine Methämoglobinbildung.

In Abb. 3 zeigen wir den Kurvenverlauf bei 1,2- und 1,4-Naphthochinon. Während das Orthochinon bald ein Gleichgewicht erreicht, dessen Methämoglobinkonzentration übrigens höher liegt als die des Benzochinons, zeigt das 1,4-Naphthochinon eine Kurve, die ähnlich wie diejenigen der Methoxychinone fast linear verläuft. Abb. 4 zeigt die geprüften Oxyderivate des 1,4-Naphthochinons, das Lawson (2-Oxy-1,4-naphtho-

chinon), das Naphthazarin (5,8-Dioxy-1,4-naphthochinon) und das 2-Methylnaphthazarin. Das Lawson erweist sich als ein sehr schwacher Methämoglobinbildner, wobei sich ein Gleichgewicht auf einer sehr niedrigen Methämoglobinkonzentration einstellt, während Naphthazarin und Methylnaphthazarin keine Gleichgewichtskonzentrationen erreichen; sie sind relativ starke Methämoglobinbildner. Im Falle des Naphthazarins haben wir nach etwa 14 Stunden und dann später eine konstante Gleichgewichtskonzentration von 56 mg/100 ccm an Methämoglobin gemessen; der Wert erscheint uns allerdings nicht als genügend verlässlich, da wir feststellen konnten, daß nach längerem Stehenlassen als 5 Stunden unkontrollierbare Sekundärprozesse das Resultat verändern können.

Um den Vergleich mit den Redoxpotentialen durchführen zu können, geben wir in folgender Tabelle die von verschiedenen Autoren angegebenen Redoxpotentiale der geprüften Substanzen wieder, soweit sie unseres Wissens bis jetzt gemessen wurden. Die Autoren haben ihre Messungen allerdings bei unterschiedlichem p_H und in verschiedenen Lösungsmitteln vorgenommen; wir geben daher den Wert umgerechnet auf E_0 /Chinhydron wieder und erhalten dadurch eine vergleichbare Reihe, da die Kurven der p_H -Abhängigkeit für alle gemessenen Chinone parallel gehen¹⁰.

Tabelle. Reduktions-Oxydationspotentiale der auf ihre Fähigkeit zur Methämoglobinbildung untersuchten Chinone.

Substanz	E_0 /Chinhydron in mV	Lösungs- mittel	Autor
p-Benzochinon	0	a	11
Toluchinon	—55	a	11
4-Methoxytoluchinon	bisher nicht gemessen		
2,6-Dimethoxychinon	—182	b	12
2,5-Dimethoxychinon	—235	b	12
2,6-Dichlorchinon	+33	a	11
Chloranilsäure	—247	a	11
Trichlormethylchinon	bisher nicht gemessen		
1,2-Naphthochinon	—118	c	13
1,4-Naphthochinon	—253	c	13
2-Oxy-1,4-naphthochinon	—334	c	13
Naphthazarin	—320	c	13
Methylnaphthazarin	—373	e	13

Lösungsmittel: a 5% H_2SO_4 in Eisessig,
 b 5% 0,5-n HCl in Alkohol,
 c 50%iger Alkohol, 0,1-n HCl, 0,2-n LiCl.

Wie schon erwähnt und aus den Abbildungen ersichtlich, ist es uns nicht bei allen Chinonen gelungen, vergleichbare Gleichgewichtskonzen-

¹⁰ Vgl. *L. Michaelis*, Oxydations-Reduktionspotentiale. Berlin. 1932.

trationen in der Versuchszeit zu erreichen. Aber auch in diesen Fällen ergibt die Anwendung der im einleitenden Teil erwähnten Gleichung von *Dimroth* keine konstanten Werte für den Proportionalitätsfaktor *m*. Wir sehen ganz vom Fall des 1,2-Naphthochinons ab, das sogar eine höhere Methämoglobinkonzentration erzeugt als das Benzochinon, obwohl es ein viel niedrigeres Redoxpotential besitzt. Aber auch dort, wo Redoxpotential und Methämoglobinbildung konform gehen — Benzochinon, Toluchinon, 2,6-Dichlorochinon und Lawson — ergibt die Ausrechnung von *m* Werte, die fast um eine Zehnerpotenz untereinander verschieden sind. Die Gleichung von *Dimroth* läßt sich also anscheinend auf die Methämoglobinbildung durch die Chinone, die ja doch annähernd eine dynamisch homologe Reihe darstellen, nicht anwenden. Die Bildung des Methämoglobins kann daher nicht mit Dehydrierungsreaktionen, wie sie *Dimroth* (l. c.) anführt, verglichen werden.

Bei denjenigen Substanzen, die in der Versuchszeit keine Gleichgewichtseinstellung verursachen, läßt sich ein qualitativer Vergleich durchführen, indem man die Anfangsgeschwindigkeiten der Methämoglobinbildung miteinander vergleicht. Leider ergibt die Versuchsanordnung gerade am Anfang der Reaktion weniger genaue Werte; immerhin kann man aus späteren Messungen die Anfangskonzentrationen befriedigend intrapolieren. Wir erhalten dann, wenn man nach der Größe der Anfangsgeschwindigkeiten ordnet, folgende Reihe: Methylnaphthazarin, 1,4-Naphthochinon, Naphthazarin, 4-Methoxytoluchinon, 2,5-Dimethoxybenzochinon und 2,6-Dimethoxybenzochinon. Erstaunlicherweise steht hier das Methylnaphthazarin, das von allen besprochenen Substanzen das niedrigste Redoxpotential hat, an erster Stelle; auch sonst können wir keine dem Redoxpotential entsprechende Reihung feststellen.

Es kann also angenommen werden, daß das Redoxpotential bei einer biologischen Oxydation, wie wir sie hier vor uns haben, keine ausschlaggebende Rolle spielt; konstitutionsbedingte Faktoren, die noch nicht berechnet werden können, überlagern anscheinend seinen Einfluß.

Die beschriebene Reihung nach der Methämoglobinbildung zeigt aber auch nur entfernte Ähnlichkeit mit denjenigen, die wir erhalten, wenn wir die Hemmwirkungen gegenüber der Aktivität von Urease, Carboxylase und Katalase als Kriterium anwenden. Völlig parallel verhalten sich nur 1,2-Naphthochinon, p-Benzochinon, Toluchinon und Chloranilsäure; letztere hemmt weder Urease noch Katalase und bildet auch kein Methämoglobin, das 1,2-Naphthochinon wirkt in allen Fällen stärker als das Benzochinon und dieses wieder stärker als das Toluchinon. Die Reihung

¹¹ Dissertationen *H. Kessler*, Würzburg 1935; *R. Schütz*, Würzburg 1924.

¹² *J. B. Conant* und *L. F. Fieser*, *J. Amer. chem. Soc.* **46**, 1867 (1924).

¹³ *K. Wallenfels* und *W. Moehle*, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **76**, 924 (1943).

der übrigen Substanzen weist kaum irgendeine Übereinstimmung auf; für die besonders starke Wirkung der Halogenbenzochinone gibt es überhaupt kein Beispiel bei den Fermenten, während die starke Methämoglobinbildung durch Methylnaphthazarin mit der starken Carboxylasehemmung durch dieselbe Substanz verglichen werden kann. Von einer durchgehenden Übereinstimmung zwischen Methämoglobinbildung und Fermenthemmung durch die verschiedenen Chinone kann aber auf keinen Fall gesprochen werden.

Wir haben bei den bisher besprochenen Versuchen die Chinone in alkoholischer Lösung zur gepufferten Blutverdünnung zugesetzt, da einige der Chinonderivate in Wasser auch in dieser geringen Konzentration sich nicht als löslich erwiesen.

Unsere Versuchslösungen enthielten so 12% Äthylalkohol. Da nun *F. Hawrowitz*¹⁴ angibt, daß 20%iger Äthylalkohol ohne sonstigen Zusatz Methämoglobin bildet, haben wir bei einigen in Wasser löslichen Chinonen den Versuch auch in wäßriger Lösung durchgeführt und konnten feststellen, daß die Methämoglobinwerte in rein wäßriger Lösung etwas niedriger waren als in 12%ig alkoholischer. Dagegen fanden wir im Falle der Chloranilsäure auch in alkoholischer Lösung keine Methämoglobinbildung; 12%iger Alkohol scheint keine Methämoglobinbildung zu verursachen, wie eine Blindprobe zeigte.

Wir haben auch einige Messungen an verschiedenen Chinonen außer bei der gewöhnlichen Versuchstemperatur von 9° bei 20° durchgeführt, wobei wir feststellten, daß die Methämoglobinbildung einen der *van 't Hoff*schen Regel entsprechenden Temperaturkoeffizienten besitzt. Bemerkenswert erscheint uns auch die Verstärkung des durch Alkoholzusatz bewirkten Effekts bei höherer Temperatur. Wir zeigen die unterschiedlichen Verhältnisse, welche durch Verwendung von Wasser und Alkohol als Lösungsmittel, so wie durch verschiedene Versuchstemperaturen bedingt sind, am Beispiel des Toluchinons in Abb. 5, wozu wir bemerken, daß wir auch andere Chinone in gleicher Weise untersucht haben und vollkommen analoge Verhältnisse vorgefunden haben.

Wir haben schließlich, wie schon im methodischen Teil erwähnt, auch

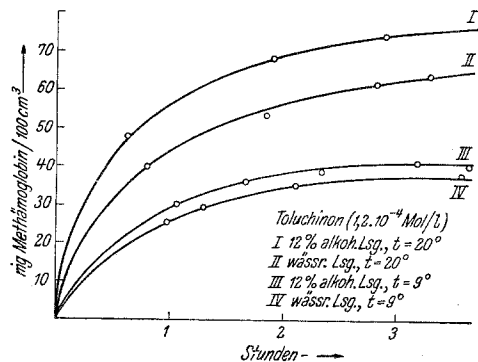


Abb. 5.

¹⁴ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 138, 68 (1929).

Versuche an nicht hämolysierten Blutkörperchen durchgeführt. Die Messungen der Methämoglobinkonzentration ergaben durchwegs übereinstimmende Werte mit den am Hämolysat vorgenommenen. Man kann daraus entnehmen, daß sämtliche Chinone im Gegensatz zum Ferricyankalium imstande sind, die Membranen der Erythrozyten unverändert zu passieren.

Es war unsere Absicht, Versuche über die Methämoglobinbildung durch die genannten Substanzen auch am lebenden Tiere durchzuführen. Wir mußten aber leider bis jetzt davon Abstand nehmen, da wir bei den derzeitigen Ernährungsverhältnissen in Wien dabei Gefahr gelaufen wären, daß uns bei einem Experiment ein Versuchstier nicht durch Einwirkung der Substanzen, sondern durch mangelhafte Ernährung zugrunde gegangen wäre. Wir beabsichtigen bei Besserung der Verhältnisse diese Versuche nachzuholen.

Wir danken Herrn Prof. *L. Ebert* für sein förderndes Interesse an dieser Arbeit, weiters Herrn Dozenten *H. Konzett* für die freundliche Überlassung der Institutsmittel.

Zusammenfassung.

Es wurde die Methämoglobinbildung durch verschiedene Derivate des Benzochinons und Naphthochinons an hämolysierten und nichthämolysierten Blutverdünnungen bei $p_H = 6,8$ gemessen. Die Messungen erfolgten mit der Versuchsanordnung nach *Havemann* und Mitarbeitern im *Havemann-Kolorimeter*. Die erreichten Methämoglobinkonzentrationen waren in nur sehr eingeschränktem Maße vom Reduktions-Oxydationspotential der Substanzen abhängig; es lassen sich auch nur wenige Übereinstimmungen mit der Stärke der Hemmung von Urease, Katalase und Carboxylase durch dieselben Chinone feststellen. Weiters wurde gefunden, daß der Zusatz der Chinone in alkoholischer Lösung eine stärkere Methämoglobinbildung verursacht als in wäßriger. Schließlich wurde die Methämoglobinbildung bei zwei verschiedenen Temperaturen verglichen. Die Versuche an nicht hämolysierten Blutverdünnungen ergaben gleiche Resultate wie bei den Hämolysaten, so daß geschlossen werden kann, daß die Chinone sämtlich imstande sind, die Erythrozytenmembranen zu durchdringen.