

## XVII.

(Ans dem pharmakologischen Institute der Universität.)

## Ueber eine Elementareinwirkung des Nitrobenzols auf Blut.

Von Dr. L. Lewin,

Assistenten am pharmakologischen Institute zu Berlin.

(Hierzu Taf. VII.)

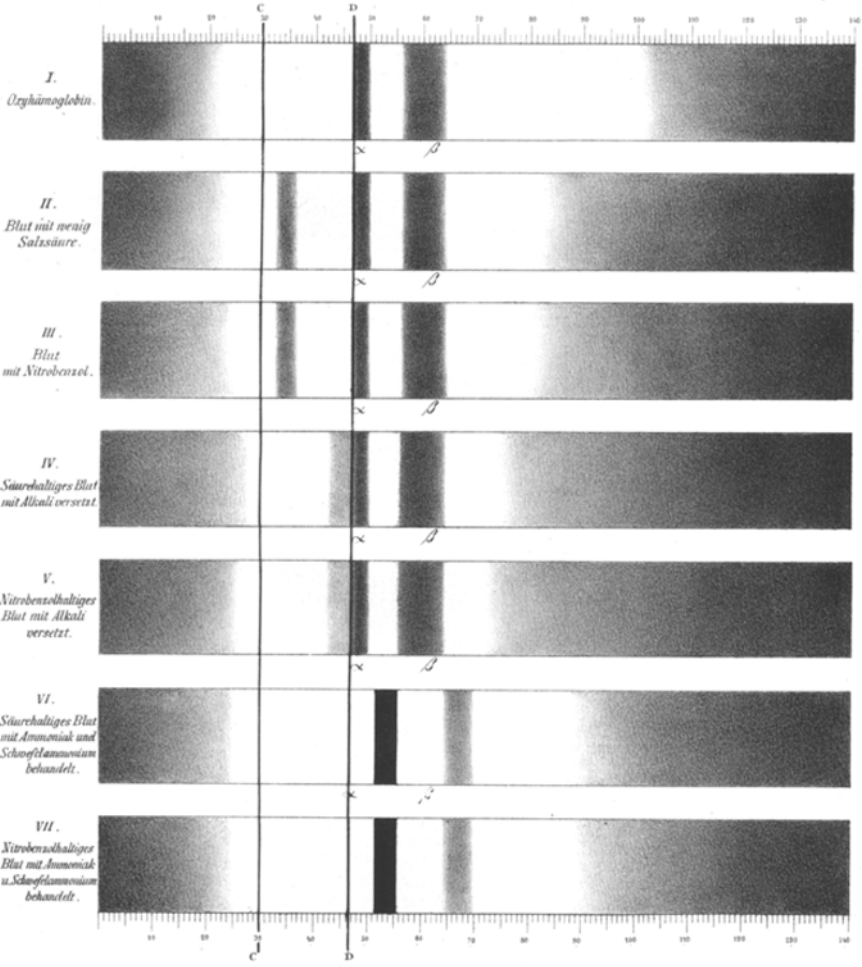
Die Anzahl derjenigen Substanzen, die eine chemisch oder physikalisch nachweisbare Veränderung auf das Blut ausserhalb des Körpers hervorbringen, ist nicht gross. Mit um so grösserem Interesse muss daher ein jeder derartiger neuer Anhaltspunkt, der vielleicht dazu führen kann, über die pharmakologische oder toxikologische Wirkungsart der betreffenden Substanz Aufklärung zu geben ergriffen werden. Es sind bisher bekanntlich die Bemühungen, diejenigen Veränderungen, die wir mit dem Blute im Reagirglase durch gewisse Mittel erzeugen können, auch innerhalb des Körpers hervorzubringen, nur in einigen Fällen von Erfolg gekrönt gewesen. Ich habe in einer früheren Untersuchung dargethan<sup>1)</sup>, dass das Herbeiführen gewisser Bedingungen, wie z. B. das Freiwerden der zu untersuchenden Substanz im Blute und den Geweben aus einer complexeren Verbindung mitunter das erhoffte Resultat erlangen lässt.

Die folgende Mittheilung hat den Zweck an einem Beispiele nachzuweisen, was a priori vorauszusetzen war, dass wenn wir sichtbare Veränderungen im Blute durch Einführung einer Substanz in die Blutbahn eines Thieres erzeugen können, wir die gleichen Veränderungen auch im todten Blute durch dasselbe Mittel hervorzurufen im Stande sind.

In einer kurzen Mittheilung hat Starkow<sup>2)</sup> im Jahre 1871 der Beobachtung Erwähnung gethan, dass eine Reihe von aromati-

<sup>1)</sup> Ueber die Veränderungen des Natriumsulfantimoniats im thierischen Organismus und die Einwirkung des Schwefelwasserstoffs auf das lebende Blut. Dieses Archiv Bd. 74. Hft. 2.

<sup>2)</sup> Starkow, Zur Toxikologie der Körper der Benzingrouppe. Dieses Archiv Bd. 52. S. 464.



schen Körpern sowohl im Blute damit vergifteter Thiere, als auch ausserhalb des Organismus, durch die spectroskopische Beobachtung erkennbar, ausser den beiden Oxyhämoglobinstreifen, noch einen dem sauren Hämatin entsprechenden, im Roth des Spectrums liegenden Absorptionsstreifen hervorrufen. Die hierhergehörigen Körper sind nach ihm zum grössten Theil Nitrokörper, enthalten also das Radical  $\text{NO}_2$ . Während das Benzol und seine Chlorderivate nur eine Auflösung der rothen Blutkörperchen erkennen lassen, zeigen Nitrobenzol und Binitrobenzol neben mikroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen der rothen Blutkörperchen, noch die eben charakterisirte Einwirkung auf das Blutspectrum.

Diese Angabe Starkow's erfuhr in einer umfangreichen Untersuchung Filehne's<sup>1)</sup> eine theilweise Widerlegung. Filehne vermochte zwar in sehr concentrirten Blutlösungen von mit Nitrobenzol vergifteten Hunden den Absorptionsstreifen im Roth aufzufinden, suchte denselben jedoch vergeblich im Blute von ebenso behandelten Kaninchen und im Blute, das mit Nitrobenzol versetzt worden war. Es schien mir dieses letztere Verhalten so allen Voraussetzungen zu widersprechen, dass ich eine Untersuchung der Frage nach dieser Richtung hin für nothwendig hielt. Das zur Verwendung gelangte, aus krystallisirtem Benzol dargestellte Nitrobenzol war vollkommen säurefrei, und siedete constant bei  $205 - 206^\circ \text{C}$ .

Wird nun eine mässig verdünnte Blutlösung mit einigen Tropfen dieses Nitrobenzols versetzt, so tritt nach einigen Stunden in derselben neben den beiden Oxyhämoglobinstreifen ein Absorptionsstreifen im Roth des Spectrums auf. In noch kürzerer Zeit lässt sich dieses Resultat erreichen, wenn man das Blut im Wasserbade kurze Zeit auf Bluttemperatur erwärmt. Die Lage dieses Streifens lässt sich mit Genauigkeit bestimmen, da er selbst in stark verdünntem Blute scharf abgegrenzt ist. Wenn C auf 30, und D auf 47 liegt, so befindet er sich in etwas concentrirten Lösungen zwischen 32 und 34, in verdünnten auf 35 der Millimeterscala (Fig. 3).

Es fragt sich nun, ob derselbe speciell dem Nitrobenzolblute eigenthümlich, oder als einem der bisher bekannten Umwandlungsproducte des Blutfarbstoffs, und zwar in erster Reihe dem Hämatin zugehörig zu betrachten ist.

<sup>1)</sup> Filehne, Ueber die Giftwirkung des Nitrobenzols. Archiv für experim. Pathol. u. Pharmacol. Bd. IX. Hft. 5.

Bisher ist es bekanntlich nicht gelungen, selbst nicht durch Einfuhr von Säuren, gleichgültig auf welchem Wege man diese vornahm, eine Abspaltung von Hämatin im Blute zu erzeugen. Die betreffenden Thiere gingen zwar in Folge dieser Operation nach einiger Zeit zu Grunde, ohne dass jedoch nachweisbare Veränderungen im Blute oder den Geweben aufzufinden gewesen sind. Salkowski<sup>1)</sup>, der die Thatsache entdeckte, dass Taurin in den Magen von Kaninchen eingeführt, unter Bildung von unterschwefliger Säure und Schwefelsäure zersetzt wird, führte den nach längerer Fütterung damit eintretenden Tod auf die durch die Säure bewirkte Alkalientziehung des Blutes zurück, was später von Walter<sup>2)</sup> bestätigt wurde. Spectroskopische Untersuchungen des Blutes wurden von beiden nicht angestellt. Auch Oré<sup>3)</sup> und nach ihm Guttman<sup>4)</sup> vermochten selbst durch Einbringung von Säuren in die Venen keine direct und objectiv nachweisbare Todesursache aufzufinden. Beim Menschen fand jedoch Bamberger<sup>5)</sup> in einem Falle von Vergiftung mit concentrirter Schwefelsäure im Harne neben Eiweiss ein braunrothes Sediment, das sich beim Fehlen von Blutkörperchen als Hämatin charakterisirte. Er erklärt sich diese Erscheinung dadurch, dass ein Theil der Säure in freiem Zustande entweder durch arrodirt Gefässe, oder auf dem Wege der Endomose (!) in's Blut gelange, und hier eine Zerlegung derselben in Eiweiss und Hämatin verursacht. Diese Zersetzungsproducte verliessen dann durch die Nieren die Blutbahn.

Munk und Leyden<sup>6)</sup>, die klinisch und experimentell die Wirkungsweise einer Reihe von organischen und unorganischen Säuren studirten, konnten nur einmal Hämatin — aber auch nicht durch Spectraluntersuchung — im Harne eines Menschen nach Schwefelsäurevergiftung nachweisen, niemals jedoch bei Thieren.

<sup>1)</sup> Salkowski, Dieses Archiv Bd. 58, S. 1 u. Arch. f. experiment. Pathologie Bd. VII. S. 421.

<sup>2)</sup> Walter, Die Wirkung der Säuren auf den thierischen Organismus. Arch. f. experiment. Pathol. Bd. VII.

<sup>3)</sup> Oré, Comptes rendus T. LXXXI. p. 833.

<sup>4)</sup> Guttman, Dieses Archiv Bd. 69.

<sup>5)</sup> Bamberger, Ueber Albuminurie nach Schwefelsäurevergiftung. Wiener Medicin. Halle. 1864. S. 309.

<sup>6)</sup> Munk u. Leyden, Kl. Wochenschrift 1864. S. 469 u. ff.

Ich selbst habe die Bildung von Hämatin im lebenden Blute durch Säuren von einem anderen Punkte aus zu erreichen versucht, aber gleichfalls mit negativem Erfolge. Von der bekannten Thatsache ausgehend, dass das Kohlenoxychlorid mit Wasser sich in der Weise umsetzt, dass sich Salzsäure und Kohlensäure bildet:



glaubte ich in demselben ein Mittel gefunden zu haben, die Bildung der Salzsäure im Blute oder den Geweben vor sich gehen zu lassen, und dadurch eine energischere Wirkung zu erreichen. Ich liess deshalb Kaninchen, die sich unter einer hierzu geeigneten Glocke befanden, das aus Chloroform durch Oxydation mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure dargestellte Phosgengas athmen. Es traten Intoxicationerscheinungen auf, die in Dyspnoe und klonischen Zuckungen bestanden. Die Thiere gingen auch meist in Folge dieses Eingriffes zu Grunde — im Blute fand ich jedoch nie die Erscheinungen der Säurewirkung. Dieselbe wird jedenfalls, ehe sie objectiv sichtbar werden kann, durch das Alkali der Gewebs- und Säftmassen paralysirt.

Nach diesen Erfahrungen sollte man erwarten, dass es nicht möglich sein würde eine Hämatinbildung im Blute zu ermöglichen. Indess sind Säuren nicht das einzige Mittel um Hämatin zu erzeugen, was, wie ich sogleich zeigen werde, aus der Einwirkung des Nitrobenzols auf Blut hervorgeht. Denn der durch Nitrobenzol erzeugte Absorptionsstreifen im Roth des Blutspectrums ist unzweifelhaft als dem Hämatin angehörig zu betrachten. Filehne giebt an, dass dieser Streifen mit dem des Hämatins in seiner Lage nicht coincidire. Wenn zu diesem Versuche reines Hämatin gebraucht wurde, so kann ich der Beobachtung von Filehne vollkommen beipflichten. Indess scheint mir dies nicht der richtige Weg zu sein, um diese Frage zu beantworten. Denn reines, eiweissfreies Hämatin, zeigt seinen Absorptionsstreifen an einer anderen Stelle liegend, als eiweisshaltiges, und deswegen wird, wenn sich im Nitrobenzolblute Hämatin bildet, der Absorptionsstreifen desselben nicht mit dem des reinen Hämatin übereinstimmen können. Ich habe deswegen, um annähernd gleichartige Bedingungen herzustellen, den Versuch so eingerichtet, dass ich ein dem Nitrobenzolblute analoges, durch Säurezusatz hämatinhaltig gemachtes Blut darstellte. Setzt man zu einer Blutlösung vorsichtig eine verdünnte Säure, z. B. Salzsäure,

so kann man ein Spectrum erhalten, das neben dem Hämatinstreifen noch beide Hämoglobinstreifen zeigt. Der Hämatinstreifen dieses Spectrums coincidirt vollkommen mit dem Absorptionsstreifen im Roth des nitrobenzolhaltigen Blutes (Fig. 2).

Ist so schon durch Uebereinstimmung in der Lage eine gewisse Identität festgestellt, so tritt dieselbe in noch viel eclatanterer Weise bei der Einwirkung einiger Reagentien zu Tage. Fügt man nemlich zu dem säurehaltigen Blute irgend ein Alkali hinzu, so rückt der Hämatinstreifen von seiner ursprünglichen Stelle nach rechts zur Linie  $\alpha$  heran, und erhält so eine Lage zwischen 41 und 47 der Scala (Fig. 4). In sehr verdünnten Lösungen liegt er dann gerade auf 41. Dasselbe Verhalten zeigt Nitrobenzolblut, wenn es mit Alkalien behandelt wird (Fig. 5). Was aber vollends beweisend ist, und eigentlich jede andere Reaction überflüssig macht, ist der Umstand, dass es mir gelang, im nitrobenzolhaltigen Blute durch Behandlung mit Ammoniak und Schwefelammonium in passender Verdünnung, die von Stokes entdeckten Streifen des reducirten Hämatins nachzuweisen. Der erstere, scharf begrenzte liegt in meinem Apparate ( $D = 47$ ) zwischen 52 und 55, der zweite nur schwach angedeutete zwischen 64 und 70 (Fig. 7).

Es ergibt sich hieraus mit Nothwendigkeit, dass der durch Einwirkung von Nitrobenzol auf Blut auftretende Absorptionsstreifen im Roth des Spectrums als Hämatinstreifen anzusprechen ist.

Es sind für die Entstehung dieses Streifens zwei Möglichkeiten vorhanden. Einmal lässt sich denken, dass Nitrobenzol in Verbindung mit Blut entweder im Thierkörper oder ausserhalb desselben eine Säure bilde und diese partiell zerlegend auf das Blut einwirke, andererseits aber kann durch die Fähigkeit des Nitrobenzols die rothen Blutkörperchen aufzulösen die Bildung von Hämatin zu Stande kommen. Es wäre dieser letztere Vorgang ein der Säurewirkung analoger, denn auch diese lösen, wie von Munk und Leyden (l. c.) u. A. für die Phosphorsäure, Weinsäure, Oxalsäure, Arsensäure nachgewiesen ist, die rothen Blutkörperchen auf.

Was die erstgenannte Möglichkeit, die Bildung einer Säure aus dem Nitrobenzol anlangt, so wäre dieselbe von vornherein nicht ganz von der Hand zu weisen. Denn in ähnlicher Weise wie sich

aus dem Monobrombenzol im Körper Monobromphenol bildet ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Br} - \text{C}_6\text{H}_4\text{Br}(\text{OH})$ ), könnte bei Gegenwart von Oxyhämoglobin, also einem Körper, der leicht Sauerstoff abgibt, das Nitrobenzol eine theilweise Umwandlung in Nitrophenol erleiden ( $\text{C}_6\text{H}_5(\text{NO}_2)$  in  $\text{C}_6\text{H}_4(\text{NO}_2)(\text{OH})$ ). Von den drei möglichen Mononitrophenolen ist das erste, das in Wasser sehr wenig lösliche Orthonitrophenol mit Wasserdämpfen flüchtig, schmilzt schon bei  $45^\circ \text{C.}$ , reagirt gleich den anderen Nitrophenolen schwach sauer, und bringt, wie ich nachgewiesen habe, in Blutlösungen einen Absorptionsstreifen im Roth hervor, der mit dem durch Nitrobenzol erzeugten, sowohl hinsichtlich seiner Lage als auch seiner Eigenschaft bei Einwirkung von Alkalien und Reductionsmitteln identisch ist. Dagegen macht das Paranitrophenol nur die Blutfarbe heller, fast ziegelroth, ohne das spectroskopische Bild zu verändern.

Es lässt sich indess zeigen, dass unter gleichen äusseren Bedingungen in zwei Blutlösungen, von denen die eine mit Nitrobenzol, die andere mit Orthonitrophenol versetzt wird, die erstere früher den Hämatinstreifen zeigt, wie die letztere, so dass die Entstehung des Streifens in Folge einer Nitrophenolbildung unwahrscheinlich wird. Andererseits ist es mir nicht gelungen in mit Nitrobenzol versetztem Blute Nitrophenol nachzuweisen. Ich habe ferner durch subcutane Einführung von 1 Grm. Orthonitrophenol bei einem Hunde keinerlei ausgesprochene toxische Einwirkung gesehen. Es ist bekannt, dass dasselbe im Harne zum Theil als Aetherschwefelsäure wiedererscheint<sup>1)</sup>. Wir sind demnach gezwungen anzunehmen, dass allein die Fähigkeit des Nitrobenzols die rothen Blutkörperchen aufzulösen, Ursache des Auftretens des Hämatinstreifens ist.

Es lag nunmehr nahe, andere Substanzen, von denen eine die Blutkörperchen auflösende Eigenschaft bekannt ist, nach dieser Richtung hin zu prüfen, um so eventuell eine Stütze für die eben ausgesprochene Ansicht zu gewinnen. Ich untersuchte das fast unlösliche Binitrobenzol, den Aethyläther, das Aethylformiat, das Aceton, den Petroleumäther und den Schwefelkohlenstoff. Ueber den letzteren behalte ich mir vor demnächst in einer grösseren Untersuchungsreihe noch Näheres zu berichten. Alle diese Substanzen

<sup>1)</sup> E. Tauber, Das Verhalten der aromatischen Verbindungen im thierischen Organismus. Habilitationsschr. Jena 1878.

lösen in mehr oder minder hohem Grade die rothen Blutkörperchen auf, und alle zeigen, zu einigermaassen concentrirten Blutlösungen gesetzt, nach kurzer Zeit einen Absorptionsstreifen, der mit dem durch Nitrobenzol erhaltenen, sowohl in seinen Lageverhältnissen, als in seinen chemischen Reactionen vollkommen identisch ist. Besonders das mit Aethylformiat, und auch mit Schwefelkohlenstoff versetzte Blut zeigt beim Behandeln mit Ammoniak und Schwefelammonium in prägnanter Weise das spectroscopische Bild des reducirten Hämatin, oder des Hämochromogen nach Hoppe-Seyler. Durch die letztere Reaction wird zugleich die Möglichkeit, dass hier das Methämoglobin in Frage kommen könnte, ausgeschlossen; denn nach Hoppe-Seyler <sup>1)</sup> giebt eine Hämatinlösung bei Gegenwart von Eiweissstoff, auf diese Weise behandelt, Hämochromogen, und Methämoglobin giebt Hämoglobin.

Die Lageübereinstimmung der durch die vorbenannten Stoffe hervorgerufenen Absorptionsstreifen im Roth ist viel grösser als der durch die verschiedenen Säuren erzeugten. Schon Preyer <sup>2)</sup> wies beispielsweise für die Essigsäure nach, dass die Lage des Säurebandes abhängig ist von der Menge der Säure, und wenn man in seinen Untersuchungen die Lage des durch Säuren darstellbaren Hämatinstreifens vergleicht, so findet man zwischen den einzelnen Differenzen, die zwischen 4 bis 6 Theilstrichen der Scala variiren <sup>3)</sup>. So grosse Abweichungen kommen bei den durch die oben erwähnten Substanzen erzeugten Hämatinstreifen — natürlich unter gleichen physikalischen Verhältnissen — nicht vor.

In ganz schlagender Weise lässt sich die Bildung von Hämatin durch Einfuhr von Nitrobenzol in den Thierkörper zeigen. Ich führe hier des Beispiels wegen nur einen Versuch an:

Einem kleinen Hunde von  $2\frac{1}{2}$  Kilogramm Gewicht, werden 2 Grm. Nitrobenzol an zwei Körperstellen subcutan injicirt. Es traten die bekannten Intoxicationssymptome auf, und nach 23 Stunden war der Hund todt. Das 10 Minuten nach erfolgtem Tode aus

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Weitere Mittheilungen über die Eigenschaften des Blutfarbstoffs. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. II. S. 154.

<sup>2)</sup> Preyer, Die Blutkrystalle. 1871. S. 74.

<sup>3)</sup> Hoppe-Seyler scheint diese, wenngleich geringe Verschiedenheit der einzelnen Säuren in ihrer Einwirkung auf Blut nicht zuzugeben. Vergl. Medicin.-chem. Untersuchungen Hft. 1. S. 153.



den Gefässen entnommene Blut war vollkommen chocoladefarbig, gerann sehr schnell, und roch leicht nach Nitrobenzol. Bei der spectroscopischen Beobachtung im durchfallenden Lichte zeigte sich, selbst wenn man das Blut so verdünnte, dass die Hämoglobinstreifen deutlich sichtbar wurden, der Hämatinstreifen klar und scharf abgegrenzt. Durch Behandeln mit Ammoniak und Schwefelammonium liess sich mit Leichtigkeit Hämochromogen nachweisen.

Ich bin davon überzeugt, dass man auch im Stande sein wird durch Einfuhr eines oder des anderen der obengenannten Stoffe in den Thierkörper in ähnlicher Weise wie durch Nitrobenzol im lebenden Blute den Hämatinstreifen zu erzeugen. Begünstigend, wenn nicht bedingend für das Zustandekommen desselben würde, wenn man nicht die Abspaltung der betreffenden Substanz im Organismus vor sich gehen lässt, eine möglichst langsame Resorption und ein möglichst langes Verweilen des Giftes im Blute sein. Bei dem Nitrobenzol treffen die beiden letzteren Forderungen in erwünschter Weise zusammen, so dass das circulirende Blut immer neue, wenn auch geringe Quantitäten des Giftes in sich aufnehmen kann, und letzteres Zeit hat allmählich seine, durch Nichts zu paralysirende, zerstörende Fähigkeit zu entwickeln. Substanzen dagegen, besonders flüchtige, die schnell resorbirt und ebenso schnell durch Lungen, Haut oder Nieren zur Ausscheidung gelangen, sind, wenn sie fertig gebildet dargereicht werden, wohl kaum im Stande diese sichtbar deletären Einwirkungen auf das Blut auszuüben.

Aus dem bisher Mitgetheilten glaube ich den Schluss ziehen zu können, dass die Giftwirkung des Nitrobenzols fast ausschliesslich in der Fähigkeit derselben die rothen Blutkörperchen zu zerstören, und in der dadurch herbeigeführten Unmöglichkeit den Geweben den zum Leben nothwendigen Sauerstoff zuzuführen besteht. Durch die exacten Untersuchungen Filehne's über die Blutgase von mit Nitrobenzol vergifteten Thieren wissen wir, dass „der Gehalt an Sauerstoff derartigen Blutes trotz verstärkter Athmung enorm verkleinert ist, und noch immer geringer wird, je weiter die irreparable Giftwirkung fortschreitet“. Es lässt dies in Verbindung mit der Beobachtung der scheinbar ergiebigen Hämatinbildung im Blute nur die eine Erklärung zu, dass die Gesammtheit der Blutkörperchen durch das aufgenommene Gift verändert wird, und zwar in der Weise,

dass das Oxyhämoglobin eine gradatim fortschreitende Umwandlung erleidet. Dass bei manchen mit Nitrobenzol vergifteten Thieren, z. B. Kaninchen, die spectroskopische Untersuchung post mortem nur das Bild normalen Blutes giebt, während es schon dem einigermaassen an Blutfarben gewöhnten Auge bei der äusseren Inspection verändert erscheint, beweist nichts gegen die Annahme der gleichen Blutzeretzung auch in diesem Falle. Denn man kann z. B. zu einer Blutlösung in geringer Menge eine Säure hinzufügen, ohne den Hämatinstreifen wahrzunehmen, während sich sicher in derselben Hämatin gebildet haben muss. Demnach glaube ich, dass auch bei Kaninchen sich derselbe Vorgang im Blute wie bei Hunden abspielt. Dieselben gehen nur früher an Erstickung zu Grunde als die Zersetzung des Blutes so weit vorgeschritten ist, dass sie sich durch das Auftreten des Hämatinstreifens documentiren kann.

Zum Schlusse will ich noch auf die Beobachtung hinweisen, dass verdünnte, nitrobenzolhaltige Blutlösungen nicht der „Sauerstoffzehrung“ unterliegen. Man kann noch nach Monaten in solchen Proben beide Blutstreifen deutlich nachweisen. Die Sauerstoffzehrung resp. das spontane Auftreten des Reductionsstreifens im Blute ausserhalb des Organismus wollte Stokes dadurch erklären, dass sich gewisse im Blute vorhandene Stoffe auf Kosten des Sauerstoffs des Hämoglobins oxydirten. Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> zeigte jedoch, dass die betreffenden reducirenden Stoffe erst im Stadium der Fäulniss auftreten, und E. Hofmann<sup>2)</sup> wies nach, dass die Fäulnissbakterien diese reducirenden Stoffe ausmachen. Von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet, würde demnach das Nitrobenzol als ein antiseptisches Mittel zu betrachten sein. In der That habe ich in lange aufbewahrten, nitrobenzolhaltigen, organischen Flüssigkeiten stets Fäulnisserscheinungen vermisst.

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Ueber den Ort der Zersetzung von Eiweiss und anderen Nährstoffen. Pflüger's Arch. Bd. VII. S. 405.

<sup>2)</sup> E. Hofmann, Beitrag zur Spectralanalyse des Blutes. Separatabdr. Naturw. Medicin. Verein 1873.