

Beiträge zur Kenntniss der β -Oxybuttersäure und ihres Verhaltens im Organismus.

Von

Dr. T. Araki.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen im Februar 1893.)

Bekanntlich ist das Auftreten von β -Oxybuttersäure im Harn häufig bei Diabetiker, aber zuweilen bei anderen Krankheiten, nie im normalen Zustande beobachtet. Die Ursachen der Bildung und der Ausscheidung dieser Säure sind noch nicht aufgeklärt, wenn aber eine solche fette Säure im Harn erscheint, liegt der Gedanke nahe, dass eine Störung in der Harnsecretion und zwar ein Mangel an Sauerstoff in der Niere, wenn auch nicht als die einzige Ursache, doch als ein nicht unwichtiges Moment für diese pathologische Erscheinung aufzufassen sei.

Ausgehend von dieser Ansicht, habe ich die im Folgenden zu schildernden Versuche angestellt. Einige vorbereitenden Arbeiten mussten zunächst über gewisse Eigenschaften der β -Oxybuttersäure ausgeführt werden, welche 1) die Zerlegung dieser Säure bei der Destillation ihrer wässerigen Lösung; 2) ihre Zersetzung durch Fäulnissgährung; 3) ihre Trennung von Milchsäure und Bestimmung beider Säuren nebeneinander betreffen.

Da mir die im Organismus entstandene optisch active (linksdrehende) Säure nicht zu Gebote stand, habe ich zu den folgenden Versuchen die Säure angewendet, welche nach dem bekannten Verfahren von Wislicenus, Reduktion des Acetessigesters mit Natriumamalgam, von mir dargestellt war.

I. Zersetzung von β -Oxybuttersäure bei der Destillation ihrer wässerigen Lösung.

Im ersten Versuche wurden 2 gr. freier β -Oxybuttersäure in 200 cbem. Wasser aufgelöst und im Oelbade der Destillation unterworfen, das Destillat in 3 Fractionen aufgefangen, mit Zinkcarbonat einzeln gesättigt, die Quantitäten des crotonsauren Zinks bestimmt.

- Fraction 1. 100 cbem. enthielten 0,022 gr. crotons. Zn. = 0,019 gr. freier β -Oxybutters.
2. 80 cbem. enthielten 0,013 gr. crotons. Zn. = 0,011 gr. freier β -Oxybutters.
3. 13 cbem. enthielten 0,242 gr. crotons. Zn. = 0,214 gr. freier β -Oxybutters.

Der Rückstand im Kolben erstarrte als braune Masse.

Im zweiten Versuche wurde in gleicher Weise verfahren, mit 1,87 gr. β -Oxybuttersäure gelöst in 187 cbem. Wasser und im Oelbade destillirt.

- Fraction 1. 94 cbem. enthielten 0,018 gr. crotons. Zn. = 0,015 gr. freier β -Oxybutters.
2. 75 cbem. enthielten 0,012 gr. crotons. Zn. = 0,010 gr. freier β -Oxybutters.
3. 12 cbem. enthielten 0,301 gr. crotons. Zn. = 0,266 gr. freier β -Oxybutters.

Der Rückstand erstarrte als braune Masse.

Im dritten Versuche wurde 1,25 gr. α -Crotonsäure in 125 cbem. Wasser aufgelöst und die Lösung der Destillation unterworfen, im Destillate die Säure mit Barytwasser neutralisirt.

- Fraction 1. 50 cbem. gab 0,973 gr. crotons. Baryum = 0,545 gr. freier Crotonsäure.
2. 25 cbem. gab 0,819 gr. crotons. Baryum = 0,458 gr. freier Crotonsäure.

Der Rückstand gab noch 0,41 gr. crotons. Baryum.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, dass die α -Crotonsäure mit den Wasserdämpfen reichlicher überdestillirt, als die β -Oxybuttersäure, dass aber schon bei der Destillation einer 1 procentigen wässerigen Lösung der letzteren Säure

bis auf die Hälfte ihres Volumen (wobei sie also kaum 2procentig geworden ist) ein geringer Theil in Crotonsäure umgewandelt wird und als solche überdestillirt. Die Quantität der zerlegten überdestillirenden Säure bleibt immerhin gering, bis die Lösung die Concentration von 10 % β -Oxybuttersäuregehalt erreicht hat, von da ab geht viel von der Säure über. Da die Crotonsäure schon bei geringerer Concentration reichlich übergeht, ist es nicht zweifelhaft, dass die Spaltung der β -Oxybuttersäure erst bei ziemlich hoher Concentration und Temperatur reichlicher eintritt.

II. Ueber die Fäulniss-Gährung der β -Oxybuttersäure.

Da Calciumsalze bekanntlich für Gährungsversuche sich besonders geeignet erwiesen haben, so wurde das gewonnene Natriumsalz in Calciumverbindung umgewandelt.

Was die Infizirung betrifft, so bediente ich mich einer gefaulten 1procentigen Peptonlösung, welche ein wenig Kaliumphosphat enthielt, mit einem Tropfen von Schlamm versetzt und 3 Tage lang im Wasserbad bei 38–40° C. gehalten war.

Am 18. Juni 1892 wurden 7,597 gr. β -oxybuttersaures Calcium in 200 cbcm. Wasser aufgelöst, in einen Kolben gebracht, mit 10 gr. Calciumcarbonat versetzt und dann einmal zum Sieden erhitzt. Nachdem die Lösung vollkommen abgekühlt und 10 cbcm. Peptonlösung mittelst eines Trichters in den Kolben zugegossen war, wurde der Kolben in der Weise zugeschmolzen, dass dessen Hals, zu einem engen Rohr ausgezogen, passend gebogen war und mit der Mündung unter Quecksilber stand, um entwickelte Gase genau in mit Quecksilber gefüllten Röhren auffangen zu können.

Die Gährung fand vom 18. Juni bis 22. Oktober bei 16–28° C. statt und da am 22. Oktober die Temperatur unter 12° C. gesunken war, und die Gasentwicklung aufhörte, so wurde der Kolben in ein grosses Wasserbad gestellt, dessen Temperatur mittelst eines Thermoregulators auf 26° C. eingestellt war.

Zur Controle wurden 7,787 gr. β -oxybuttersaures Calcium in 200 cbcm. Wasser aufgelöst und unter denselben Be-

dingungen der Fäulniss überlassen. Diese Portion war stets mit Nr. II bezeichnet, um Verwechslung mit Nr. I zu vermeiden.

Die Zusammensetzung der aufgefangenen Gase zeigt folgende Zusammenstellung:

Nr. I.

| | | | |
|-------------|-----------------|-------|----------------|
| 1. Portion. | CO ₂ | 53,25 | Volum-Procent, |
| | H ₂ | 2,88 | » |
| | N ₂ | 43,87 | » |
| 2. Portion. | CO ₂ | 60,89 | » |
| | CH ₄ | 9,52 | » |
| | H ₂ | 3,36 | » |
| | N ₂ | 26,23 | » |
| 3. Portion. | CO ₂ | 63,22 | » |

Im Uebrigen verunglückt.

Nr. II.

| | | | |
|-------------|-----------------|-------|----------------|
| 1. Portion. | CO ₂ | 29,24 | Volum-Procent, |
| 2. Portion, | CO ₂ | 62,92 | » |

In dem vereinigten von CO₂ befreiten Gasgemische von Portion 1 und 2 gefunden:

| | | | |
|-------------|-----------------|-------|----------------|
| | H ₂ | 28,62 | Volum-Procent, |
| 3. Portion. | CO ₂ | 69,41 | » |
| | CH ₄ | 30,59 | » |
| 4. Portion. | CO ₂ | 73,01 | » |
| | CH ₄ | 26,11 | » |
| | N ₂ | 0,88 | » |

Die Analysen dieser Gase wurden nach den Methoden von Bunsen (Gasometrische Methoden, 2. Aufl.) ausgeführt, die CO₂ mit Natronlauge absorbiert, H₂ und CH₄ durch Explosion mit Sauerstoff und elektrolytischen Knallgas bestimmt.

Am 8. November wurden die beiden Kolben geöffnet, die vergohrenen Flüssigkeiten in Porzellanschalen ausgegossen und auf dem Wasserbade eingedampft. Die getrocknete Masse wurde wieder in Wasser aufgelöst, einige Minuten auf dem Wasserbade erhitzt und dann heiss filtrirt, wobei Calciumcarbonat auf dem Filter zurückblieb, während Calciumverbindungen der Fettsäuren mit noch nicht zersetztem β -oxybuttersaurem Calcium ins Filtrat übergingen. Leider versäumte ich, die gesammten, in heissem Wasser löslichen Calciumsalze abzuwägen

Die Calciumverbindungen von Nr. I wurden nach dem Ansäuren mit verdünnter Schwefelsäure mehrmals mit Aether geschüttelt; nach vorsichtiger Destillation des Aethers wurde der Rückstand in Wasser aufgelöst und im Sandbade bei 120—130° C. der Destillation unterworfen. Das Destillat wurde mit Barytwasser schwach alkalisch gemacht, durch Durchleiten von CO₂, Auskochen und Filtriren von überschüssigem Baryum befreit und auf dem Wasserbade eingengt. Da es nicht möglich war, durch fractionirte Krystallisation der Baryumsalze die Säuren von einander zu trennen, so wurden die Baryumsalze in Wasser aufgelöst und durch fractionirte Fällung mit concentrirter Silbernitratlösung in Silbersatze verwandelt.

Der Rückstand wurde in ein wenig Wasser aufgelöst und durch Kochen mit Zinkcarbonat, Filtriren und Abdampfen auf dem Wasserbade in Zinksalze übergeführt.

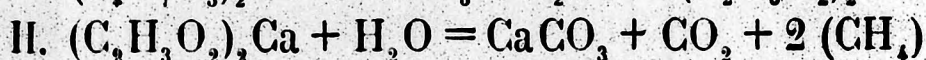
Die Calciumverbindungen Nr. II wurden zuerst nach dem Zusatze von verdünnter Schwefelsäure von gebildetem Gyps abfiltrirt, mit Wasser gut ausgewaschen und dann der Destillation unterworfen. Das Destillat wurde genau so behandelt wie Nr. I; aus dem Rückstande wurden die freien Säuren durch Schütteln mit Aether extrahirt und deren Zinksalze nach dem Abdestilliren des Aethers durch Kochen mit Zinkcarbonat, Filtriren und Verdunsten auf dem Wasserbade dargestellt.

Die Resultate der ausgeführten Silberbestimmungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

| Nr. I. | Nr. II. |
|--|---|
| 1. Fällung. 0,3925 gr. Subst. gaben 0,2300 gr. Ag = 58,59% Ag. | 1. u. 2. Fällung. 0,5884 gr. Subst. gaben 0,3340 gr. Ag = 56,76% Ag. |
| 2. Fällung. 0,3400 gr. Subst. gaben 0,2030 gr. Ag. = 59,70% Ag. | 3. Fällung. 0,4323 gr. Subst. gaben 0,2512 gr. Ag = 58,10% Ag. |
| 3. Fällung. 0,3470 gr. Subst. gaben 0,2180 gr. Ag = 62,83% Ag. | 4. Fällung. 0,5007 gr. Subst. gaben 0,3045 gr. Ag = 60,81% Ag. |
| 4. Fällung. 0,4280 gr. Subst. gaben 0,2765 gr. Ag = 64,60% Ag. | 5. Fällung. 0,4330 gr. Subst. gaben 0,2740 gr. Ag = 63,28% Ag. |
| | 6. Fällung. 0,3670 gr. Subst. gaben 0,2370 gr. Ag = 64,57% Ag. |
| | 7. Fällung. 0,512 gr. Subst. gaben 0,3311 gr. Ag = 64,66% Ag. |

Aus den oben angeführten Silberbestimmungen ist es ersichtlich, dass wenigstens zwei Säuren in jedem Destillate vorhanden waren und deren Haupttheil immer Essigsäure ausmachte. Ob die Säure, deren Silbersalz crotonsaurem Silber sehr nahe steht, ein Gemisch von der durch Destillation der β -Oxybuttersäure entstandenen Crotonsäure und Essigsäure war, oder ob es sich ums Vorhandensein anderer Säuren, wie Propionsäure, Buttersäure handelte, lässt sich nicht ohne Weiteres entscheiden. Da bei den letzten zwei Gasanalysen Methan mit voller Sicherheit nachgewiesen und in den Gährungsproducten Essigsäure in reichlicher Menge gefunden worden war, glaube ich annehmen zu können, dass β -Oxybuttersäure durch Fäulniss in 2 Moleküle Essigsäure gespalten werde und diese selbst sofort der Fäulniss unterliegen, wobei Methan neben CO_2 stets auftreten.

Die Gleichungen:



geben ein Bild dieses Gährvorganges¹⁾.

Die Quantität der aus den rückständigen Flüssigkeiten dargestellten Zinksalze fiel so gering aus, dass genaue Bestimmungen mit ihnen nicht ausgeführt werden konnten.

III. Die Zersetzung der β -Oxybuttersäure im thierischen Organismus.

Gerhardt²⁾ fand zuerst, dass der Harn von einem Diabetiker sich mit Eisenchlorid braunroth färbte und suchte diese Färbung der Anwesenheit des Acetessigäther zuzuschreiben. Nachdem Deichmüller und Tollens³⁾ nachgewiesen hatten, dass die betreffende Substanz nicht Acetessigester, sondern Acetessigsäure sei, gelang es v. Jaksch⁴⁾, diese Säure aus dem Harne darzustellen und deren Kupfersalz zu analysiren.

1) Vergl. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XI, S. 561.

2) Wiener med. Presse, 28, 1865.

3) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 209, S. 22.

4) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VII, S. 487.

Aus einem Versuche von Minkowski¹⁾ ergibt sich mit Wahrscheinlichkeit, dass Acetessigsäure durch Oxydation der β -Oxybuttersäure entsteht. Er destillirte eine ziemlich verdünnte wässrige Lösung der aus dem Harnе gewonnenen β -Oxybuttersäure unter Zusatz von Kaliumdichromat und Schwefelsäure und fand im Destillate reichliche Mengen Aceton. In einer kurz darauf erschienenen Arbeit «über die Wirkung und die Verwandlung einiger Stoffe im Organismus in Beziehung zur Pathogenese der Acetonämie und des Diabetes» sagt Albertoni²⁾: «Ich stellte einige Versuche an, um zu sehen, ob die β -Oxybuttersäure im Organismus Acetessigsäure liefere und auf denselben irgend einen speciellen Einfluss ausübe. Ich stellte die β -Oxybuttersäure nach der Methode von Wislicenus dar und brachte sie Thieren bei, doch fand ich im Harnе derselben keine Acetessigsäure und beobachtete keine besonderen Wirkungen.»

Nach einer Angabe von Wolpe³⁾ scheint kein Parallelismus zwischen Acetonurie und β -Oxybuttersäureausscheidung vorhanden zu sein, im Gegentheil besteht in einzelnen Fällen ein gewisser Antagonismus zwischen der Menge des Acetons und derjenigen der β -Oxybuttersäure: mit dem Steigen der β -Oxybuttersäuremenge nahm der Acetongehalt ab. Dieser Befund lässt sich wohl mit der Annahme von Minkowski, dass die β -Oxybuttersäure die Vorstufe des Acetons sei, vereinigen.

Wenn bei der Oxydation der β -Oxybuttersäure im Organismus Acetessigsäure resp. Aceton als Zwischenstufe entstehen und sofort weiter zersetzt werden, so dürften wir wohl erwarten, dieselben im Harn von einem Thiere, welches nach Eingabe der β -Oxybuttersäure mit CO vergiftet ist, nachzuweisen. Um dieses Verhalten genau zu studiren, habe ich folgende Versuche an Kaninchen, Hunden und Fröschen angestellt.

Die β -Oxybuttersäure wurde als Natronsalz den Thieren beigebracht.

¹⁾ Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmacol., Bd. XVIII, S. 42.

²⁾ Ebendas., Bd. XVIII, S. 238.

³⁾ Ebendas., Bd. XXI, S. 153.

I. Versuch an Kaninchen..

1. Versuch. 21. Januar 1893. Nachdem ein Kaninchen um 10 Uhr Vorm. 2,588 gr. β -oxybuttersaures Natron unter die Haut injicirt erhielt, wurde es mit CO vergiftet. 3 Uhr Nachm. 1,7425 gr. β -oxybuttersaures Natron subcutan eingespritzt. Die Vergiftung dauerte 9 Stunden.

Da der um 3 Uhr 30 Min. Nachm. entleerte Urin deutliche Eisenchloridreaction zeigte, wurde er mit Wasser verdünnt und destillirt. Das Destillat gab mit Jodjodkalium und Natronlauge reichlichen Niederschlag von Jodoform. Mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge zeigte dasselbe sehr schwach röthliche Färbung.

Der Rückstand wurde mit den übrigen, während der Vergiftung entleerten Urinportionen vereinigt und zur Darstellung der β -Oxybuttersäure verwendet.

Die Calciumverbindung der nach der bekannten Methode dargestellten Säure betrug 5,027 gr. Diese Verbindung kann nicht wohl reines β -oxybuttersaures Calcium, sondern nur ein Gemisch von milchsaurem und β -oxybuttersaurem Calcium sein, da es keinem Zweifel unterliegt, dass beim stark mit CO vergifteten Kaninchen Milchsäure stets im Harne gefunden wird¹⁾.

Bei mehreren Versuchen, eine möglichst vollständige Trennung der β -Oxybuttersäure von der Milchsäure zu erzielen, zeigt sich, dass ziemlich erhebliche Verluste der ersteren in keinem Falle ausgeschlossen werden konnten. Ich verfuhr deshalb vorläufig auf folgende Weise:

Das Calciumsalz wurde in möglichst wenig Wasser aufgelöst und mit concentrirter Silbernitratlösung versetzt²⁾. Nach einigen Stunden wurden die ausgeschiedenen Krystalle von

¹⁾ Vergl. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 351.

²⁾ Aus einer 15procentigen, wässrigen Lösung des β -oxybuttersauren Natron wird die Silberverbindung der Säure durch Zusatz von concentrirter Silbernitratlösung gefällt; aber bei gleichzeitiger Anwesenheit von einem milchsauren Salze geschieht diese Fällung nur langsam und unvollkommen. Ich behalte mir spätere Mittheilung über zweckmässige Trennung der β -Oxybuttersäure von der Milchsäure vor.

β -oxybuttersaurem Silber auf dem Filter gesammelt, stark abgepresst und über H_2SO_4 getrocknet,

0,3013 gr. über H_2SO_4 getrockneter Substanz ergaben nach dem Glühen
0,1542 gr. Ag = $(C_4H_7O_3) Ag$.

Gefunden:

51,17 %

Berechnet:

51,18 %

Die von β -oxybuttersaurem Silber abfiltrirte Flüssigkeit wurde mit Schwefelwasserstoff behandelt und filtrirt. Nachdem das Filtrat von H_2S durch gelindes Erwärmen befreit war, wurde es mit Barytwasser neutralisirt, mit CO_2 gesättigt, einige Minuten auf dem Wasserbade erhitzt und heiss filtrirt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade eingedampft und mehrmals mit absolutem Alkohol extrahirt, der Alkohol auszugsrückstand nach dem Verdunsten des Alkohols in Wasser aufgenommen und unter gelindem Kochen durch vorsichtigen Zusatz von concentrirter Zinksulfatlösung in Zinksalz umgewandelt. Das Zinksalz betrug 0,393 gr. Wie die folgende Zinkbestimmung zeigt, ist dieses Zinksalz noch durch Beimenge des β -oxybuttersauren Zink verunreinigt, trotzdem die Ausbeute sehr gering war.

0,0995 gr. bei 110° getrockneter Substanz ergaben 0,0300 gr. Zinkoxyd
(Fällen der Lösung mit Na_2CO_3 , Glühen des $ZnCO_3$ in Platintiegel)
= 0,0240 gr. Zn.

Gefunden:

24,12 %

Berechnet:

26,74 %

Um die Milchsäureausscheidung zu bestätigen, vergiftete ich dasselbe Kaninchen 9 Stunden lang mit CO . Aus dem während der Vergiftung aufgefangenen Urine stellte ich 1,6130 gr. milchsaures Zink dar.

2. Versuch. 2. Februar 1893. Um 9 Uhr Vorm. wurden 5,261 gr. β -oxybuttersaures Natron einem Kaninchen unter die Haut injicirt. Der Urin, welcher um 1 Uhr Nachm. aus der Blase ausgedrückt wurde, färbte sich mit Eisenchlorid ziemlich stark braunroth. Das Destillat von diesem Urin gab deutliche Lieben'sche Reaction, während die Legal'sche Probe negativ ausgefallen war. Der Harn war vollkommen frei von β -Oxybuttersäure und Milchsäure.

4. Februar 1893. Um 10 Uhr Vorm. bekam dasselbe Kaninchen 6,236 gr. β -oxybuttersaures Natron unter die Haut eingespritzt; es wurde sofort mit CO vergiftet. Die Vergiftung dauerte 8 Stunden. Ein Theil von dem während der Vergiftung gesammelten Urine wurde unter Zusatz von Wasser destillirt. Das Destillat zeigte keine erkennbare rothbraune Färbung bei Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge, wohl aber sehr charakteristische Lieben'sche Reaction mit Jodjodkalium und Natronlauge.

Aus demselben Urine wurden 3,323 gr. Calciumsalz, dessen Haupttheil milchsaures Calcium ausmachte, dargestellt.

0,5773 gr. bei 110° C. getrockneter Substanz lieferten nach dem Glühen im Platintiegel: 0,1460 gr. CaO = 0,1043 gr. Ca.

| Gefunden: | Berechnet: |
|--------------------|------------|
| 18,06% | 18,32% |
| $(C_3H_5O_3)_2Ca.$ | |

Trotzdem der Calciumgehalt der betreffenden Verbindung beinahe mit demjenigen des milchsauren Calcium übereinstimmt, gab die concentrirte Lösung von demselben Calciumsalz bei Zusatz von concentrirter Silbernitratlösung einen weissen Niederschlag, der wohl der Anwesenheit der β -Oxybuttersäure zuzuschreiben ist. Um eine Analyse auszuführen, war die Menge des gewonnenen Silbersalzes zu gering.

3. Versuch. 9. Februar 1893. Einem Kaninchen wurden 5,6991 gr. β -oxybuttersaures Natron unter die Haut eingespritzt (10 Uhr Vorm.). Der um 3 Uhr Nachm. entleerte Urin zeigte sehr schöne Eisenchloridreaction. Das Destillat von dem Urine gab keine deutliche Rothfärbung mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge; sobald dasselbe mit Jodkalium und Natronlauge versetzt war, entstand krystallinischer gelber Niederschlag von Jodoform.

13. Februar 1893. Um 9 Uhr Vorm. wurden 6,995 gr. β -oxybuttersaures Natron demselben Kaninchen subcutan injicirt. Nach der Injection wurde das Thier mit CO vergiftet. Die Vergiftung dauerte 7 Stunden. Im Destillat von dem während der Vergiftung entleerten Urine wurde Aceton durch Lieben'sche Reaction nachgewiesen. Das aus dem ätherischen

Extracte von dem Urine gewonnene Calciumsalz betrug 4,8862 gr.

4. Versuch. 14. Februar 1893. Einem kleinen Kaninchen wurden um 10 Uhr Vorm. 1,647 gr. β -oxybuttersaures Natron unter die Haut injicirt und gleich mit CO behandelt. Die Vergiftung dauerte 4 Stunden. Das Destillat von dem Urine zeigte nur schwache Lieben'sche Reaction. Aus dem ätherischen Extracte von Harne wurden 0,4583 gr. Calciumsalz dargestellt.

II. Versuch am Hunde.

5. Versuch. 2. Februar 1893. 10 Uhr Vorm. wurden 5,329 gr. β -oxybuttersaures Natron unter die Haut injicirt. Nach der Injection wurde das Thier mit CO 8 Stunden lang vergiftet. Das Destillat von dem Urine gab sehr schwache Legal'sche Reaction, jedoch reichlichen Niederschlag mit Jodjodkalium und Natronlauge. Aus dem ätherischen Extracte vom Harne wurden 3,4683 gr. Calciumsalz dargestellt.

18. Februar 1893. Demselben Hunde wurden 4,5210 gr. β -oxybuttersaures Natron unter die Haut eingespritzt. Der nach der Injection entleerte Urin enthielt keine Spur von Aceton und von Acetessigsäure.

III. Versuche an Fröschen.

6. Versuch. 4. März. 1893. 4,261 gr. β -oxybuttersaures Natron in 10 cbcm. Wasser aufgelöst und 3 grossen Fröschen subcutan eingespritzt (um 3 Uhr Nachm.).

Um 9 Uhr Morgens gaben sie 25 cbcm. Urin, der sich mit Eisenchlorid intensiv roth färbte. Im Destillate von diesem Urine wurde Aceton durch Lieben'sche Reaction nachgewiesen.

7. Versuch. 6. März 1893. 5,273 gr. β -oxybuttersaures Natron in 13 cbcm. Wasser aufgelöst und 4 grossen Fröschen in Lymphsack injicirt (um 9 Uhr Vorm.).

Der um 5 Uhr Nachm. entleerte Urin zeigte schon schöne rothe Färbung mit Eisenchlorid. Das Destillat von dem Urin

gab mit Natronlauge und Jodjodkalium reichlichen Niederschlag von Jodoform.

Wie Huppert¹⁾ in seinem Handbuch, «Analyse des Harn», angibt, ist die Lieben'sche Probe die empfindlichste, da Lösungen, welche mehr als 0,01 mgr. Aceton in einer Probe enthalten, sogleich mit Jodjodkalium und Alkalihydrat einen Niederschlag geben. Da ferner 0,8 mgr. Aceton die geringste Menge ist, bei welcher die Probe von Legal noch eintritt, und das Auftreten des Alkohols im Harn nach der Injection der β -Oxybuttersäure nicht denkbar ist, so lässt sich nicht verkennen, dass in oben angeführten Versuchen Aceton resp. Acetessigsäure im Harn vorhanden war. Es ist daher mit Bestimmtheit erwiesen, dass bei der Oxydation der β -Oxybuttersäure im Organismus Acetessigsäure als Zwischenstufe eintritt, was mit der Annahme von Minkowski übereinstimmt²⁾.

¹⁾ Analyse des Harn, 1890, S. 33—34.

²⁾ Als diese Arbeit bereits im Drucke war, erschien eine Abhandlung von Minkowski (Archiv f. experiment. Pathol. und Pharmacol., Bd. XXXI, S. 183, 1893): «Untersuchung über den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas». Dort wird angegeben, dass der Harn von einem durch Exstirpation des Pankreas diabetisch gemachten Hunde nach Eingabe von optisch activem β -oxybuttersauren Natron eine starke Eisenchloridreaction und im Destillate mit Jodjodkalium und Kalilauge einen reichlichen Niederschlag von Jodoform gab. Mit dieser Angabe stimmen meine oben angeführten Beobachtungen überein und beweisen zugleich, dass ein künstlicher oder natürlicher Diabetes für dieses Verhalten nicht erforderlich ist.