

# Quantitative Studien über Acetylierungsprozesse im Tierkörper.

## I. Mitteilung.

Die Bildung von p-Acetylaminobenzoesäure aus p-Aminobenzaldehyd und p-Aminobenzoesäure.

Von

Alexander Ellinger und Marie Hensel.

(Aus dem Universitäts-Laboratorium für medizinische Chemie und experimentelle Pharmakologie zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaktion zugegangen am 25. März 1914.)

Die Bildung von Acetessigsäure beim Abbau der Fettsäuren mit gerader Kohlenstoffzahl und unverzweigter Kette sowie beim Abbau einer Reihe von Eiweißbausteinen darf zurzeit wohl als eine gesicherte Tatsache der Lehre vom intermediären Stoffwechsel angenommen werden (Knoop, Embden u. Mitarbeiter, Baer u. Blum, Dakin), wenn auch die neueren Befunde über die Bildung von Acetessigsäure aus Körpern der 2-Kohlenstoffreihe (Friedmann), besonders aus Essigsäure (Embden u. Loeb, Friedmann) und die Beobachtung von Hemmungsvorgängen bei der Acetessigsäurebildung in der Leber (Embden u. Mitarbeiter, Friedmann) die Deutung der Resultate von Durchblutungsversuchen erschweren (vgl. die Einwände von Neuberg und Friedmann gegen die herrschenden Anschauungen vom Fettsäureabbau). Uns scheint die von Knoop und Embden begründete Lehre nicht widerlegt.<sup>1)</sup> Wenn aber die Acetessigsäurestufe sowohl beim Abbau der Fette wie eines Teiles der Eiweißbauprodukte durchlaufen wird, so wird die weitere Frage: Wie wird die Acetessigsäure im Organismus abgebaut? eins der wichtigsten Teilprobleme bei der Aufklärung der normalen Stoffwechselforgänge. Entsprechend dem Verhalten der Acetessigsäure im Reagenzglase

<sup>1)</sup> Gegen Friedmanns Acetaldehyd-Versuche und seine Schlussfolgerungen haben Ringer und Fränkel (Journ. of biol. chem., Bd. 16, S. 563, 1913/14) wichtige neue Beobachtungen ins Feld geführt.

ist die Möglichkeit des Abbaues zu Aceton und zu Essigsäure diskutiert und zum Teil auch experimentell geprüft worden. Für beide Arten des Abbaus sind Gründe ins Feld geführt worden, die in der unlängst veröffentlichten Arbeit von Hermanns zusammengestellt sind. Namentlich die Resultate von Hermanns<sup>1)</sup> mit der Verfütterung von Benzylacetessigester und Phenylpropylacetessigester weisen darauf hin, daß fettaromatische  $\beta$ -Ketonsäuren im Sinne der Essigsäurespaltung des Acetessigesters abgebaut werden können. Ein experimenteller Beweis für die Entstehung von Essigsäure aus nicht substituierter Acetessigsäure selbst im Tierkörper steht indessen noch aus, wenn man als solchen nicht die Befunde von Wake-man und Dakin<sup>2)</sup> ansehen will, die von den Autoren selbst nicht als entscheidend betrachtet werden. Sie fanden, daß aus Leberbrei, der mit Acetessigsäure gestanden hatte, nach Entfernung der unveränderten Acetessigsäure durch Hydrolyse mit Schwefelsäure mehr Essigsäure zu erhalten war als aus dem Leberbrei allein.

Was von unsern Kenntnissen über den Abbau der Acetessigsäure gesagt ist, gilt in noch höherem Maße von den Schicksalen der Brenztraubensäure im Organismus. Eine große Zahl von Beobachtungen weisen auf sie hin als regelmäßige Zwischenstufe beim Zuckerabbau (s. Embden u. Oppenheimer,<sup>3)</sup> sowie den zusammenfassenden Artikel von Neuberg in Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Ergänzungsband S. 568) und ihre Entstehung aus dem Eiweißspaltprodukt Alanin darf ebenfalls als wahrscheinlich gelten (bestritten von Ringer<sup>4)</sup>). Aber auch hier beginnt die Mangelhaftigkeit unserer Kenntnisse mit der Frage nach dem weiteren Abbau der Brenztraubensäure. Es liegt nahe, eine Oxydation unter Kohlensäureabspaltung zu Essigsäure anzunehmen, und Embden und Oppenheimer (l. c.) haben diese Annahme zu stützen gesucht, indem sie die (synthetische) Entstehung von Acetessig-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 85, S. 233, 1913.

<sup>2)</sup> Journ. of biol. chemistry, Bd. 6, S. 373, 1909.

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. 45, S. 202, 1912.

<sup>4)</sup> A. J. Ringer, Journ. of biol. chem., Bd. 15, S. 145, 1913.

säure aus Brenztraubensäure in der überlebenden Leber zum Beweise heranzogen. Auch ein anderer Modus der Bildung von Acetylresten aus Brenztraubensäure, auf den wir später zurückkommen, ist von Knoop und Kertess diskutiert worden.

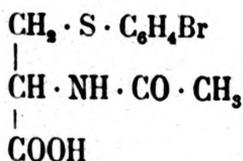
Die hier gegebene kurze und keineswegs erschöpfende Schilderung vom Stande einiger Probleme aus der Lehre vom intermediären Stoffwechsel zeigt, wie wünschenswert es ist, für die weiteren Schicksale der Acetessigsäure und Brenztraubensäure und speziell ihren etwaigen Abbau zu Essigsäure weitere Anhaltspunkte zu gewinnen.

Es fragte sich, ob die schon öfters mit Erfolg angewandte Methode, intermediäre Stoffwechselprodukte durch Fütterung körperfremder Substanzen abzufangen, hier neue Einblicke gestattete, ob ein quantitatives Studium der mehrfach beobachteten Acetylierungsvorgänge Schlüsse auf die Entstehung der Essigsäure im Stoffwechsel zuließe.

Wir sind uns wohl bewußt, daß Versuche dieser Art leicht auf Irrwege führen können und deshalb mit Vorsicht verwertet werden müssen. Das Einbringen körperfremder Substanzen kann den Zellstoffwechsel in andere Bahnen lenken, und es wäre, um ein Beispiel anzuführen, gewiß verfehlt, die Gesetze des Zuckerabbaus aus Versuchen über Glykuronsäurepaarung konstruieren zu wollen. Aber die Methoden zur Erforschung des intermediären Stoffwechsels — der Versuch am überlebenden Organ, das Studium pathologischer Abweichungen, die Überschwemmung des Organismus mit Substanzen, die im Tierkörper normal vorkommen, die Fütterung «mit chemischer Marke versehener» Substanzen wie der fettaromatischen Verbindungen — sie alle leiden daran, daß sie nur indirekte Schlüsse zulassen. Die schwierige, aber auch zugleich reizvolle Aufgabe der Erforschung des Zellstoffwechsels liegt darin, durch kritische Betrachtung der auf möglichst zahlreichen Wegen erreichten Resultate die Vorgänge aufzudecken, die mit der größten Wahrscheinlichkeit dem Geschehen im lebenden Körper entsprechen.

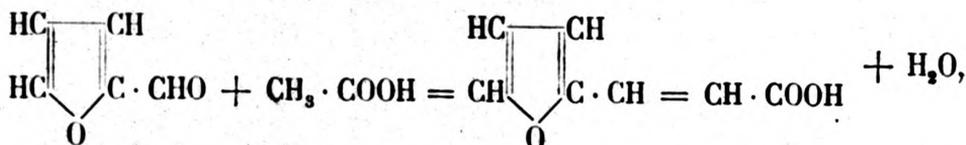
Die bisher bekannt gewordenen synthetischen Prozesse im Organismus, an denen sich Essigsäure beteiligt, sind nicht allzu zahlreich.

1881 stellten Baumann und Preuße<sup>1)</sup> fest, daß das Stoffwechselprodukt des Brombenzols, das sie gleichzeitig mit Jaffe<sup>2)</sup> aus dem Hundeharn isoliert hatten und Bromphenylmercaptursäure nannten, ein acetyliertes Bromphenylcystein ist, dem nach den späteren Untersuchungen von Friedmann<sup>3)</sup> die Formel



zukommt.

Sechs Jahre später entdeckten Jaffe und Rud. Cohn<sup>4)</sup> die eigenartige Synthese der Furfuracrylsäure nach Fütterung von Furfurol an Hunde und Kaninchen:



ein Vorgang, der völlig der Perkinschen Synthese der Zimtsäure aus Benzaldehyd, Natriumacetat und Essigsäureanhydrid entspricht. Ein Analogon für diese eigenartige Beteiligung der Essigsäure an einem synthetischen Prozeß hat sich seitdem nicht wieder auffinden lassen, obwohl viele Versuche nach dieser Richtung angestellt worden sind (R. Cohn,<sup>5)</sup> E. Friedmann,<sup>6)</sup> unveröffentlichte Versuche von Jaffe).

Bei den übrigen Synthesen, an denen sich die intermediär entstehende Essigsäure beteiligt, handelt es sich wie bei der Mercaptursäurebildung um den Eintritt von Acetylresten in Aminogruppen.

So fand Rudolf Cohn,<sup>7)</sup> daß m-Nitrobenzaldehyd im Harn von Kaninchen z. T. als m-Acetylaminobenzoessäure, p-Nitrobenzaldehyd in Form einer Verbindung aus p-Nitrobenzoe-

<sup>1)</sup> E. Baumann u. Preuße, Diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 309, 1881.

<sup>2)</sup> M. Jaffe, Ber. d. chem. Ges., Bd. 12, S. 806, 1879.

<sup>3)</sup> E. Friedmann, Hofmeisters Beiträge, Bd. 4, S. 486, 1903.

<sup>4)</sup> M. Jaffe u. R. Cohn, Ber. d. chem. Ges., Bd. 20, S. 2311, 1887.

<sup>5)</sup> R. Cohn, Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 274, 1893.

<sup>6)</sup> E. Friedmann, Biochem. Zeitschr. Bd. 55, S. 425, 1913.

<sup>7)</sup> R. Cohn, Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 284, 1893.

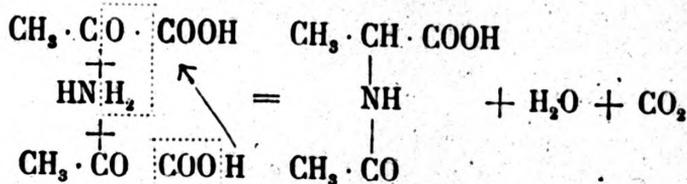
säure und p-Acetylaminobenzoesäure ausgeschieden wurde. Hier war also die Acetylierung verknüpft mit Oxydation der Aldehyd- und Reduktion der Nitrogruppe.

Weiterhin hat Knoop mit Kerteß<sup>1)</sup> beim Hunde die Ausscheidung von rechtsdrehender  $\gamma$ -Phenyl- $\alpha$ -acetylaminobuttersäure (4 g) nach Fütterung von racemischer  $\gamma$ -Phenyl- $\alpha$ -aminobuttersäure (18 g) und in geringerer Quantität auch nach Fütterung von  $\gamma$ -Phenyl- $\alpha$ -Ketobuttersäure und  $\gamma$ -Phenyl- $\alpha$ -Oxybuttersäure beobachtet.

Endlich wurde von Neubauer und Warburg<sup>2)</sup> im Leberdurchblutungsversuch die Bildung kleiner Mengen von d-Acetyl-Phenylaminoessigsäure aus dl-Phenylaminoessigsäure festgestellt.

Bei allen den genannten Acetylierungen im engeren Sinne — von der Kondensation des Furfurols mit Essigsäure sei hier abgesehen — ist es fraglich, ob eine einfache Anlagerung von Essigsäure an eine Aminoverbindung unter Wasseraustritt im Tierkörper stattfindet, oder ob die Entstehung des Acetylprodukts die Folge einer Reihe komplizierterer z. T. vielleicht einander bedingender Reaktionen ist.

Baumann und Preuß geben an,<sup>3)</sup> daß aus eingegebenem Bromphenylcystein im Organismus des Hundes Bromphenylmercaptursäure nicht regeneriert wird. Cohn konnte nach Darreichung von m-Aminobenzoesäure kein Acetylprodukt im Harn auffinden, und Knoop ist, ohne eine bestimmte Entscheidung über den Chemismus des Acetylierungsprozesses in seinen Versuchen abzugeben, geneigt, ihn im Sinne einer von Erlenmeyer jun. und de Jong aufgefundenen Reaktion zu deuten, in der 2 Moleküle Brenztraubensäure mit Ammoncarbonat unter Kohlensäureabspaltung zu Acetylalanin zusammentreten:



<sup>1)</sup> F. Knoop, Diese Zeitschrift, Bd. 67, S. 489, 1910; F. Knoop und E. Kerteß, ebenda, Bd. 71, S. 252, 1901.

<sup>2)</sup> O. Neubauer u. O. Warburg, Diese Zeitschr., Bd. 70, S. 1, 1910.

<sup>3)</sup> l. c., S. 339.

Dieser Erklärungsversuch ist namentlich geeignet, die Entstehung der Acetylamino-säuren aus den Amino- und Keto-säuren unter einen einheitlichen Gesichtspunkt zu bringen. Neubauer und Warburg ziehen ihn ebenfalls in Betracht, und sie wie Knoop weisen darauf hin, daß bei diesem Reaktionsmechanismus die Acetylierung ebenso mit Oxydations- und Reduktionsvorgängen einhergeht wie bei den von R. Cohn beobachteten Umwandlungen der Nitrobenzaldehyde.

Es ist klar, daß bei quantitativen Untersuchungen über den Acetylierungsprozeß die Verknüpfung mit Oxydations- und Reduktionsvorgängen oder auch nur die Wahrscheinlichkeit einer solchen eine unerwünschte Komplikation schaffen muß. Unser Streben ging deshalb dahin, anknüpfend an die vor 20 Jahren im hiesigen Institut von R. Cohn gesammelten Erfahrungen einen möglichst glatt verlaufenden Acetylierungsprozeß ausfindig zu machen, wenn auch dieses Unternehmen nach den vorliegenden Literaturangaben wenig aussichtsreich erschien.

Weder die m-Nitrobenzoesäure<sup>1)</sup> noch, wie schon erwähnt, die m-Aminobenzoesäure hatten R. Cohn ein Acetylprodukt geliefert, mit m-Aminobenzaldehyd war wegen der schweren Zugänglichkeit der Substanz von ihm kein Versuch angestellt worden. Cohn faßte seine Erfahrungen dahin zusammen, daß zum Eintritt der Acetylierung die Anwesenheit der Aldehydgruppe nötig sei, und sprach die Erwartung aus, daß der m-Aminobenzaldehyd wohl ebenfalls als m-Acetylamino-benzoesäure ausgeschieden würde.

Unsere Versuche, die im Oktober 1912 begonnen wurden, bestätigten zunächst mit kleinen Abweichungen die Resultate von R. Cohn für den m- und p-Nitrobenzaldehyd. Der m-Aminobenzaldehyd ist im Handel nur als Anhydrid vorhanden, das erst durch einen beträchtlichen Überschuß von Salzsäure sich in ein wasserlösliches Chlorhydrat des Aminobenzaldehyds überführen läßt und deshalb zur Darreichung an Kaninchen wenig eignet.

---

<sup>1)</sup> R. Cohn, Diese Zeitschrift, Bd. 18, S. 133, 1893.

Dagegen lieferte der jetzt käufliche p-Aminobenzaldehyd, wie die unten wiedergegebenen Versuche zeigen, ganz vorzügliche Ausbeuten an p-Acetylaminobenzoesäure. Es gelang bei geeigneter Versuchsanordnung schließlich aus 2 g des Aldehyds 1,97 g der p-Acetylaminobenzoesäure zu erhalten. War somit erwiesen, daß die Acetylierung unabhängig von der Reduktion der Nitrogruppe entsprechend der von R. Cohn ausgesprochenen Erwartung vor sich gehen konnte, so blieb noch zu prüfen, ob sich auch die Oxydation der Aldehydgruppe als komplizierende Reaktion bei den quantitativen Versuchen ausschließen ließ.

Auch diese Hoffnung hat sich erfüllt. Die p-Aminobenzoesäure wird im Kaninchenorganismus ebenfalls acetyliert. Wie nach dem Aldehyd schwankte auch nach der Säure bei verschiedenen Individuen, bei verschiedener Fütterung und verschiedener Applikationsweise das Maß der Acetylierung. Es wurden aber schließlich Versuchsbedingungen gefunden, unter denen über 30% der Aminobenzoesäure acetyliert wurden.

Somit waren die experimentellen Grundlagen geschaffen, um die Beeinflussung des Acetylierungsprozesses durch Essigsäure liefernde Substanzen quantitativ zu verfolgen. Über die Resultate dieser bereits abgeschlossenen Versuche soll in der nächsten Mitteilung berichtet werden.

### Experimenteller Teil.

#### Versuche mit m-Nitrobenzaldehyd.

Zu den Versuchen wurde der von der Firma Kahlbaum dargestellte m-Nitrobenzaldehyd verwandt. Es wurde nach R. Cohn eine 10%ige Lösung in Olivenöl von Körpertemperatur hergestellt und einem Kaninchen die aus Tabelle 1 ersichtlichen Mengen injiziert. Das Tier starb am siebenten Tage unter den Zeichen der Lähmung. Bei der Sektion war an den Organen nichts Pathologisches nachzuweisen.

Der Harn wurde nach der schon von R. Cohn angegebenen Weise folgendermaßen verarbeitet: Die täglichen Mengen wurden auf dem Wasserbade bis zur Trockene ein-

Tabelle 1 (Rüben).

10%ige Lösung von m-Nitrobenzaldehyd in Olivenöl, subcutan.

| Datum<br>1912 | Ge-<br>wicht<br>g | Injektion |                               |        | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung          | Andere<br>Sub-<br>stanzen  | Bemerkungen                          |
|---------------|-------------------|-----------|-------------------------------|--------|-----------------------|----------------------------|-------------------------------------|--|--------------------------------------|
|               |                   | morgens   | mittags                       | abends |                       |                            |                                     |  |                                      |
| 29. X.        | 1743              | —         | 0,5 g<br>m-Nitro-<br>benzald. | —      | 64                    | alkalisch                  | keine<br>Acetyl-<br>ver-<br>bindung | ungefähr<br>1,1g Nitro-<br>benzoe-<br>säure<br>nach Um-<br>krystalli-<br>sation mit<br>Wasser.<br>Schmelz-<br>punkt<br>140°. | mittags<br>Lähmung.<br>Sektion o. B. |
| 30.           | 1828              | 0,5 g     | —                             | —      | 272                   | schwach<br>alkalisch       |                                     |  |                                      |
| 31.           | 1810              | 0,4 g     | —                             | 0,4 g  | 210                   | desgl.                     |                                     |  |                                      |
| 1. XI.        | 1770              | 0,5 g     | 0,5 g                         | —      | 220                   | ›                          |                                     |  |                                      |
| 2.            | 1790              | 0,5 g     | 0,8 g                         | —      | 214                   | ›                          |                                     |  |                                      |
| 3.            | 1770              | 0,8 g     | —                             | —      | 124                   | sauer                      |                                     |  |                                      |
| 4.            | 1810              | 0,8 g     | —                             | —      | 70                    | amphot.<br>E. +            |                                     |  |                                      |

gedampft; die Rückstände aus dem Harn mehrerer Tage wurden mehrmals mit Alkohol extrahiert, und die Alkoholextrakte wurden wieder auf dem Wasserbade bis zum Verdunsten des Alkohols eingedampft; der Rückstand wurde mit wenig Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure stark angesäuert und mehrmals mit großen Mengen Äther ausgeschüttelt, bis nichts mehr aus der schwefelsauren Lösung in den Äther hineinging. Der Äther wurde auf dem Wasserbade abdestilliert. Aus dem Äther krystallisierte spontan nichts aus. Der Rückstand wurde mit Wasser übergossen und 24 Stunden stehen gelassen. Nach dem Abfiltrieren des Wassers wurde der Rückstand mehrmals mit Äther gewaschen und dann auf dem Tonteller getrocknet. Der Rest betrug nach der Umkrystallisation aus Wasser 0,2 g und hatte den Schmelzpunkt 140°, der auch nach mehrmaligem Umkrystallisieren konstant blieb. Es handelte sich also um m-Nitrobenzoesäure. Der Schmelzpunkt der m-Acetylamino-benzoesäure beträgt 242°. Aus dem zum Waschen benutzten Äther wurden ebenfalls noch im ganzen 0,9 g vom Schmelzpunkt 138° gewonnen. Die Wasserlösung wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Rückstand nach dem Verdunsten des Äthers war so minimal, daß er nicht weiter untersucht werden konnte.

Bei diesem Versuch wurde entgegen den Angaben von R. Cohn keine Acetylverbindung im Harn gefunden. Das ist ein Zeichen dafür, daß sich nicht alle Tiere der eingeführten Substanz gegenüber gleichmäßig verhalten. Diese Erfahrung bestätigte sich in allen weiteren Versuchen. Wenn es auch nicht mehr vorkam, daß sich bei einem Kaninchen nach einem der verabreichten Produkte überhaupt keine Acetylverbindungen im Harn fanden, so zeigten sich doch große Unterschiede in der Menge des Acetylierungsproduktes. Bei gleicher Menge der zugeführten Substanz und gleicher Fütterung ergaben sich z. B. bei Versuchen mit p-Aminobenzaldehyd Werte zwischen 1,36 und 1,97 g und bei Versuchen mit p-Aminobenzoesäure Werte von 0,08—0,71 g. Ebenso war die Empfindlichkeit der Tiere gegen die zugeführten Substanzen durchaus verschieden. Einige der Kaninchen starben während des Versuches, sogar im Beginn, zum Teil allerdings an interkurrenten Krankheiten, wobei dann die Substanz wohl die Rolle eines disponierenden Momentes spielte; andere Kaninchen wieder zeigten nicht die geringsten Störungen; infolgedessen konnte ein Kaninchen zu 9 verschiedenen Versuchen benutzt werden. Versuche, bei denen das Kaninchen die Periode der Fütterung mit dem Aldehyd oder der Säure allein überstand, aber vor Abschluß des Versuchs mit Zusatz eines Essigsäurebildners starb, sind in dieser Veröffentlichung mit aufgenommen.

Ein zweiter Versuch mit m-Nitrobenzaldehyd (s. Versuchstabelle 2) ergab wenigstens 1,2 g m-Acetylaminobenzoesäure, die spontan aus dem Äther auskrystallisierten nach Abdampfen auf ungefähr 30 ccm. Leider wurde der richtige Schmelzpunkt erst nach einmaligem Umkrystallisieren gefunden. Daß es sich um eine Acetylverbindung handelte, war daran zu erkennen, daß sie unter starkem Geruch nach Essigsäure sublimierte.

Die Verarbeitung des Harns erfolgte stets in derselben oben angegebenen Weise, nur das Übergießen des Ätherrückstandes mit Wasser wurde nach den ersten Versuchen fortgelassen, da aus der Wasserlösung durch Ausäthern stets nur minimale nicht wägbare Mengen gewonnen wurden.

Tabelle 2 (Rüben).

10% m-Nitrobenzaldehyd in Olivenöl subcutane Injektion.

| Datum<br>1912 | Gewicht<br>g | Injektion   |         | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>verbindung | Andere<br>Sub-<br>stanzen | Bemer-<br>kungen |
|---------------|--------------|-------------|---------|-----------------------|----------------------------|-----------------------|---------------------------|------------------|
|               |              | morgens     | mittags |                       |                            |                       |                           |                  |
| 6. XI.        | 1973         | 0,5 g       | —       | 64                    | sauer                      |                       |                           |                  |
| 7.            | 2035         | 0,5 >       | —       | 240                   | alkalisch                  |                       |                           |                  |
| 8.            | 2000         | 0,4 >       | 0,4 g   | 210                   | schwach alk.               | 1,2 g                 |                           |                  |
| 9.            | 2030         | 0,5 >       | 0,5 >   | 240                   | desgl.                     | Acetylamino-          | 4,4 g                     |                  |
| 10.           | 1995         | 0,5 >       | —       | 170                   | amphot.                    | benzoesäure           | Nitro-                    |                  |
| 11.           | 1945         | 0,5 >       | 0,8 >   | 200                   | > Blut +<br>Eiweiß +       | Schmelz-              | benzoe-                   |                  |
| 12.           | 1980         | 0,8 >       | —       | 250                   | amphot.                    | punkt                 | säure                     |                  |
| 13.           | 1980         | 0,8 >       | 0,8 >   | 180                   | alkal. Eiw. —              | vor dem               | Schmelz-                  |                  |
| 14.           | 2035         | 0,8 >       | 0,8 >   | 330                   | neutral                    | Umkrystalli-          | punkt                     |                  |
| 15.           | 2000         | 0,8 >       | 0,8 >   | 74                    | alkalisch                  | sieren                | 138°                      |                  |
| 16.           | 1977         | 0,8 >       | 0,8 >   | 60                    | alkalisch<br>Eiw. — Blut — | 231 od. 235°          |                           |                  |
| 17.           | 1925         | 0,8 >       | —       | 50                    | alkalisch                  |                       |                           |                  |
| 18.           | 1910         | 0,8 >       | —       | nur wenige<br>Tropfen | Eiweiß +                   |                       |                           |                  |
| 19.           | 1910         | 0,8 >       | —       | 300                   | —                          |                       |                           |                  |
|               |              | Summa 5,7 g |         |                       |                            |                       |                           |                  |

Das Kaninchen vertrug die Substanz ohne Schaden.

## Versuche mit p-Nitrobenzaldehyd.

Da von dem p-Nitrobenzaldehyd keine Lösung hergestellt werden konnte, wurde eine Suspension in Glycerin und Wasser benutzt, womit auch R. Cohn gearbeitet hatte. Während R. Cohn die Substanz nur verfüttert hatte, versuchten wir es auch mit der Injektion, da R. Cohn in einem Versuche mit m-Nitrobenzaldehyd festgestellt hatte, daß die Ausbeute von Acetyl-Substanz bei subcutaner Zufuhr ungefähr dreimal so groß war wie bei der Einführung per os. Das Kaninchen vertrug die Injektion sehr gut.

Im ganzen wurden aus dem Äther 0,63 g gewonnen, die teils aus dem Äther auskrystallisierten teils als Rückstand nach dem Übergießen mit Wasser zurückblieben. Die Substanz zeigte auch nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Wasser einen unscharfen und viel zu niedrigen Schmelzpunkt (223—233°) sowohl für die von Cohn beschriebene Verbindung aus p-

Acetylaminobenzoesäure und Nitrobenzoesäure wie für die erstere Säure allein. Wir begnügten uns mit der Feststellung, daß sie bei der Sublimation Essigsäure entwickelte, und standen von weiteren Versuchen mit p-Nitrobenzaldehyd ab, da wir bald fanden, daß der p-Aminobenzaldehyd sich für unsere Versuche besser eignete.

Tabelle 3 (Rüben).

Suspension von p-Nitrobenzaldehyd in Glycerin und Wasser subcutan.

| Datum<br>1912 | Ge-<br>wicht<br>g | Injektion   |                                      | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>verbindung                                 | Bemerkungen   |
|---------------|-------------------|-------------|--------------------------------------|-----------------------|----------------------------|---|---|
|               |                   | morgens     | mittags                              |                       |                            |   |   |
| 1. XI.        | 1878              | —           | 0,5g(10ccm<br>Glycerin<br>u. Wasser) | 64                    | schwach<br>alkalisch       |   |   |
| 2.            | 1937              | 0,5 g       | 0,5 g                                | 180                   | desgl.                     |   |   |
| 3.            | 1820              | 0,5 ›       | —                                    | 100                   | sauer                      |   |   |
| 4.            | 1810              | 0,5 ›       | —                                    | 185                   | schw. alkal.<br>Harn trübe | 0,63 g Acetyl-<br>verbindung<br>vom Schmelz-<br>punkt |   |
| 5.            | 1800              | 0,4 ›       | 0,5 ›                                | 310                   | trübe, Blut-<br>E. Spur +  |   |   |
| 6.            | 1834              | 0,5 ›       | 0,5 ›                                | 252                   | amphot.                    | 222—235°  |   |
| 7.            | 1840              | 0,5 ›       | 0,5 ›                                | 252                   | alkalisch                  | (Schmelz-<br>punkt                                    |   |
| 8.            | 1786              | 0,5 ›       | 0,5 ›                                | 230                   | ›                          | von Cohn  |   |
| 9.            | 1790              | 0,5 ›       | 0,5 ›                                | 260                   | ›<br>E. Spur +             | 252—254°).  |   |
| 10.           | 1750              | 0,5 ›       | —                                    | 104                   | amphot.                    |   |   |
| 11.           | 1730              | 0,5 ›       | 0,5 ›                                | 220                   | ›                          |   |   |
| 12.           | 1760              | —           | —                                    | 275                   | ›                          |   |   |
| 13.           | 1730              | —           | —                                    | 300                   | alkal. E. +                |   | Das Kaninchen<br>vertrug<br>die Substanz<br>sehr gut. |
|               |                   | Summa 8,9 g |                                      |                       |                            |   |   |

## Versuche mit p-Aminobenzaldehyd.

Der von Kahlbaum bezogene p-Aminobenzaldehyd wurde, da er in einem indifferenten Mittel nicht zur Lösung zu bringen war, zunächst in Emulsion mit Gummi arabicum subcutan injiziert. Bei einem Probeversuch (Versuchstabelle 4) wurden im

Tabelle 4 (Rüben).

Emulsion von p-Aminobenzaldehyd und ziemlich viel Wasser,  
subcutan.

| Datum<br>1912 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung  | Andere<br>Sub-<br>stanzen                            | Bemerkungen  |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|---|--|--|
| 5. XII.       | 2780              | 1                   | 120                   | alkalisch                  | 1,96 g<br>p-Acetyl-<br>amino-<br>benzoe-<br>säure.<br>Schmelz-<br>punkt<br>250—253° | Minimale<br>nicht<br>zu unter-<br>suchende<br>Mengen | Das Kaninchen<br>starb nach einigen<br>Wochen an<br>Abszessen. |
| 6.            | 2640              | 1                   | 210                   | » E. +                     |   |  |  |
| 7.            | 2400              | 1                   | 80                    | » E. +<br>Blut —           |   |  |  |
| 8.            | 2390              | 1/2                 | 40                    | stark sauer                |   |  |  |

ganzen 3,5 g injiziert; der Harn wurde in der gewohnten Weise verarbeitet. Bei den ersten Ausschüttelungen mit Äther schied sich an der Grenze 1,7 g Substanz aus vom Schmelzpunkt 250—251°. Aus dem Äther fielen aus 0,26 g vom Schmelzpunkt 253°. Der Rückstand von 0,1 g wurde mehrmals mit Äther verrieben. Es blieb nur eine geringe Menge einer harzigen Substanz zurück, und ebenso konnte aus dem Äther nur eine nicht wägbare Menge gewonnen werden. Im ganzen waren also 1,96 g einer Verbindung vom Schmelzpunkt 250 bis 253° gewonnen worden. Dieser Schmelzpunkt stimmte überein mit dem der p-Acetylaminobenzoesäure und wir vermuteten deshalb, daß es sich um diese handele. Auch die Löslichkeitsverhältnisse der gewonnenen Substanz stimmten mit denen der p-Acetylaminobenzoesäure überein. Beide waren nicht löslich in Chloroform, Benzol, Essigester, Petroläther und Schwefelkohlenstoff, sehr schwer löslich in heißem Wasser und Äther, leichter in Alkohol.

Um die Essigsäure in der gefundenen Verbindung nachzuweisen, wurden 0,5 g der Substanz mit 10 ccm 20%iger Schwefelsäure eine Stunde lang am aufsteigenden Kühler gekocht, und die Lösung unter Zusatz von je 25 ccm Wasser am absteigenden Kühler jedesmal bis auf ungefähr 5 ccm so lange abdestilliert, bis das Destillat nicht mehr sauer überging. Zum Nachweis der Essigsäure im Destillat wurde dieses mit einem ge-

ringen Überschuß von frisch bereitetem Silberoxyd versetzt und die Lösung bis auf ein kleines Volumen eingedampft. Es schied sich ein krystallinischer Niederschlag vom Aussehen des essigsauren Silbers ab, dessen Menge zur Analyse nicht ausreichte. Auf genau gleiche Weise wurde aber in späteren Versuchen die abgespaltene Essigsäure in das Silbersalz übergeführt: 0,9648 g essigsaures Silber gaben 0,6190 g Silber = 64,18%. Die berechnete Menge beträgt 64,63%. Nach dem geschilderten Verhalten war die aus dem Harn isolierte Substanz als p-Acetylamino-benzoesäure identifiziert. Um festzustellen, ob sich die Säure nach dem beschriebenen Verfahren quantitativ aus dem Harn wieder gewinnen ließe, wurden Versuche an Kaninchenharn, der mit Acetylamino-benzoesäure versetzt war, angestellt. Die Säure wurde nach den Angaben von Hofmann<sup>1)</sup> dargestellt; sie schmolz bei 250°. Aus 500 ccm Harn mit Zusatz von 1 g Substanz wurden, zum Teil an der Grenze, zum Teil aus Äther, 1,1 g vom Schmelzpunkt 251° wieder gewonnen. Es zeigte sich also ein geringer Überschuß durch Beimengung einer Verunreinigung, die bei jedem Harn sich in geringer Menge an der Grenze ausscheidet. In späteren Versuchen gelang es jedoch, durch Ausschüttelung mit großen Mengen Äther die Ausscheidung von Acetylamino-benzoesäure an der Grenze ganz aufzuheben, so daß die Verunreinigungen von der Substanz nahezu vollständig abgetrennt werden konnten. Die Säure durch Umkrystallisation aus heißem Wasser rein zu gewinnen, gelingt nur mit großen Verlusten, und ist deshalb für quantitative Bestimmungen nicht angängig.

Wir überzeugten uns deshalb von der Reinheit der durch ihren Schmelzpunkt schon charakterisierten Substanz, indem wir die nach der oben erwähnten Methode abgespaltene Essigsäure titrimetrisch bestimmten. Ein Kontrollversuch mit reiner Säure ergab, daß fast genau die theoretische Menge Essigsäure im Destillat gefunden wurde.

Versuch II mit Zusatz von 1 g synthetischer Acetylamino-benzoesäure zu 500 ccm Harn ergab wieder gewonnene Substanz 1,0 g und durch Titration bestimmt 0,96 g.

<sup>1)</sup> Berichte der chemischen Gesellschaft, Bd. 9, S. 1302, 1876.

Bei Versuch III ebenfalls 1,0 g aus dem Äther und 0,98 g durch Titration bestimmt.

Aus diesen und zahlreichen andern Versuchen ergibt sich die Anwendbarkeit der beschriebenen Isolierungsmethode aus dem Harn und die genügende Reinheit der isolierten Substanz, falls sie einen Schmelzpunkt zwischen 248—253° zeigte.

Besonders zu beachten ist, daß jede Beimengung von Hippursäure fehlen muß, da aus dieser bei der Spaltung Benzoesäure mit überdestillieren und das Titrationsresultat unsicher machen würde. Da aber die Hippursäure bei 187° schmilzt, so läßt sich ihre Beimischung durch die Schmelzpunktbestimmung leicht ausschließen. In einzelnen Bestimmungen wurden geringe Portionen, die zwischen 220 und 235° schmolzen, erhalten. Sie sind in den Protokollen besonders angeführt.

Einen wesentlichen Einfluß auf die Reingewinnung der Substanz übte die Fütterung aus. Bei Rübenfütterung, die wir bei unsern ersten Versuchen benutzten, war Reindarstellung in allen Fällen möglich; als wir im Sommer dann zur Ernährung mit Grünfütter übergehen mußten, machten wir leider die Erfahrung, daß die Verunreinigungen namentlich mit Hippursäure so groß waren, daß es nicht gelang, die Acetylamino-benzoesäure vollständig zu isolieren, und wir mußten deshalb von der Verwertung der Grünfütterversuche mit einer Ausnahme absehen. Die Haferfütterung stellte sich wieder günstiger. Es war fast stets möglich, die Acetylamino-benzoesäure von den andern Substanzen zu trennen.

Bei den quantitativen Versuchen mit p-Aminobenzaldehyd wurde zunächst den Versuchstieren an zwei aufeinander folgenden Tagen je 1 g injiziert. Der Harn wurde im ganzen von sieben Tagen gesammelt, also fünf Nachtage verarbeitet. Wir glaubten, diese Zeit so lang wählen zu müssen, da Aminobenzaldehyd als Suspension schwer resorbierbar schien. Daß fünf Nachtage genügten, zeigten zwei Verarbeitungen des sechsten Nachtages, an denen sich keine Acetylverbindung mehr nachweisen ließ.

Die Resultate zweier quantitativer Versuche sind in den Tabellen 5 und 6 wiedergegeben.

Tabelle 5 (Rüben).

p-Aminobenzaldehyd-Emulsion in Glycerin und Wasser subcutan.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | p-Acetyl-<br>aminobenzoe-<br>säure | Titration | Andere<br>Substanzen                 |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------------------|-----------|--------------------------------------|
| 17. I.        | 3290              | 1                   | 340                   | alkalisch                  | } 0,75 g                           | } 0,70 g  | } geringer<br>harziger<br>Rückstand. |
| 18.           | 3030              | 1                   | 170                   | ›                          |                                    |           |                                      |
| 19.           | 2960              | —                   | 208                   | ›                          |                                    |           |                                      |
| 20.           | 3140              | —                   | 410                   | ›                          |                                    |           |                                      |
| 21.           | 3100              | —                   | 520                   | ›                          |                                    |           |                                      |
| 22.           | 3010              | —                   | 425                   | ›                          |                                    |           |                                      |
| 23.           | 3020              | —                   | 420                   | ›                          |                                    |           |                                      |

Tabelle 6 (Rüben).

p-Aminobenzaldehyd-Emulsion in Glycerin und Wasser subcutan.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung | Titration | Andere<br>Substanzen        |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|-----------------------------|
| 16. I.        | 2330              | 1                   | 300                   | alkalisch                  | } 1,1 g                    | } 1,05 g  | } Nur<br>minimale<br>Reste. |
| 17.           | 2220              | 1                   | 80                    | amphot.                    |                            |           |                             |
| 18.           | 2140              | —                   | 42                    | ›                          |                            |           |                             |
| 19.           | 2150              | —                   | 50                    | alkalisch                  |                            |           |                             |
| 20.           | 2150              | —                   | 150                   | ›                          |                            |           |                             |
| 21.           | 2130              | —                   | 245                   | ›                          |                            |           |                             |
| 22.           | 2150              | —                   | 325                   | ›                          |                            |           |                             |
| 23.           | 2140              | —                   | 300                   | ›                          |                            |           |                             |

Da die Injektion des p-Aminobenzaldehydes ungünstig war, insofern als große Mengen Wasser nötig waren, um die Substanz quantitativ zuzuführen und sich an der Injektionsstelle häufig früher oder später Abszesse bildeten, wurde in den weiteren Versuchen die Substanz per os zugeführt. Dosen von 1 g erwiesen sich als zu groß, da das erste Kaninchen, dem diese Menge mit der Schlundsonde verabreicht war, nach einigen Stunden unter Krämpfen starb. Die Einzeldosis wurde deshalb auf  $\frac{1}{2}$  g herabgesetzt und im ganzen 4 g resp. 2 g gegeben. Die Resultate von vier Versuchen stehen in den Tabellen 7 bis 9a und b.

Tabelle 7 (Rüben).  
p-Aminobenzaldehyd, innerlich.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Fütterung<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß | Acetyl-<br>ver-<br>bindung | Andere<br>Sub-<br>stanzen | Bemerkungen                                       |
|---------------|-------------------|----------------|-----------------------|--------------------|----------------------------|---------------------------|---|
| 15. II.       | 2580              | 0,5            | 200                   |                    |                            |                           |   |
| 16.           | 2410              | 0,5            | 50                    | E. +               |                            |                           |   |
| 17.           | 2330              | 0,5            | 100                   |                    |                            |                           |   |
| 18.           | 2350              | —              | 160                   |                    |                            |                           |   |
| 19.           | 2350              | 0,5            | 300                   |                    |                            |                           |   |
| 20.           | 2450              | 0,5            | 220                   | E. —               |                            | 0,08 g                    | Das Kaninchen<br>vertrug die Substanz<br>sehr gut |
| 21.           | 2400              | 0,5            | 305                   |                    |                            | Schmelz-<br>punkt         | und konnte noch zu                                |
| 22.           | 2370              | 0,5            | 280                   |                    | 2,45 g                     | zwischen                  | einem späteren                                    |
| 23.           | 2480              | 0,5            | 245                   |                    |                            | 200 u. 216°               | Versuch<br>benutzt werden.                        |
| 24.           | 2450              | —              | 470                   |                    |                            |                           |   |
| 25.           | 2450              | —              | 440                   |                    |                            |                           |   |
| 26.           | 2530              | —              | 340                   |                    |                            |                           |   |
| 27.           | 2520              | —              | 300                   |                    |                            |                           |   |
| 28.           | 2530              | —              | 250                   |                    |                            |                           |   |
|               |                   | Summa 4 g      |                       |                    |                            |                           |   |

Tabelle 8 (Grünfutter und Rüben).  
Fütterung von p-Aminobenzaldehyd-Emulsion  
in Glycerin und Wasser.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Fütterung<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung | Andere<br>Substanzen  | Bemer-<br>kungen  |
|---------------|-------------------|----------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|---|---|
| 19. V.        | 2020              | 0,5            | 275                   |                            |                            |   |   |
| 20.           | 1930              | 0,5            | 410                   |                            |                            | 0,86 g, Schmelz-<br>punkt um 180°.  |   |
| 21.           | 1910              | 0,5            | 350                   |                            |                            | 0,3 g, Schmelzpunkt<br>150—170°.  |   |
| 22.           | 1856              | 0,5            | 385                   |                            | 0,65 g                     |   |   |
| 23.           | 1945              | —              | 250                   |                            | Schmelz-<br>punkt          | 1,57 g vollständig<br>geschmolzen bei<br>Erhitzung auf 100°<br>im Thermostaten. |   |
| 24.           | 1810              | —              | 274                   |                            | 252°                       | In Essigester voll-<br>ständig löslich.   |   |
| 25.           | 1930              | —              | 455                   | E —                        |                            |   |   |
| 26.           | 1900              | —              | 285                   |                            |                            |   |   |
| 27.           | 1830              | —              | 475                   |                            |                            |   |   |
| 28.           | 1870              | —              | 290                   |                            |                            | 2 g schmierig. Rest.  | Kaninchen<br>starb nach<br>ungefähr<br>14 Tagen an<br>Pneumonie |

Tabelle 9.

a) p-Aminobenzaldehyd, innerlich.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Fütterung<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung | Andere<br>Sub-<br>stanzen | Bemerkungen |
|---------------|-------------------|----------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------|
| 23. VI.       | 2330              | 0,5            | 91                    |                            | 1,97 g                     |                           |             |
| 24.           | 2140              | 0,5            | 107                   | E.—                        |                            | 0,15 g                    |             |
| 25.           | 2098              | 0,5            | 123                   |                            |                            | Schmelz-                  |             |
| 26.           | 2070              | 0,5            | 120                   | E.—                        |                            | punkt                     |             |
| 27.           | 1950              | —              | 52                    |                            |                            | um 180°.                  |             |
| 28.           | 1920              | —              | 70                    | E.+                        |                            | Rest 0,2 g                |             |
| 29.           | 1830              | —              | 58                    |                            |                            | Schmelzsp.                |             |
| 30.           | 1780              | —              | 50                    |                            |                            | um 180°.                  |             |
| 1. VII.       | 1770              | —              | 70                    |                            |                            |                           |             |
| 2.            | 1810              | —              | 24                    | E.+                        |                            |                           |             |

Einige Grünfüttertage.

b) ebenso wie a).

|         |      |     |    |        |        |             |  |
|---------|------|-----|----|--------|--------|-------------|--|
| 9. VII. | 1980 | 0,5 | 75 |        | 1,87 g |             |  |
| 10.     | 1940 | 0,5 | 48 |        |        | 0,2 g       |  |
| 11.     | 1925 | 0,5 | 50 |        |        | Schmelz-    |  |
| 12.     | 1880 | 0,5 | 72 |        |        | punkt       |  |
| 13.     | 1835 | —   | 37 | E.+++  |        | 150—180°    |  |
| 14.     | 1790 | —   | 53 |        |        | und letzter | Kaninchen starb am<br>18. VII. Einige Tage<br>vorher schon<br>erschwerzte Atmung,<br>Schnupfen.<br>Sektion ergab eitrige<br>Pneumonie. |
| 15.     | 1734 | —   | 62 |        |        | Rück-       |  |
| 16.     | 1660 | —   | 62 |        |        | stand       |  |
| 17.     | 1600 | —   | 80 |        |        |             |  |
| 18.     | 1510 | —   | —  | E.++++ |        |             |  |

### Versuche mit p-Aminobenzoessäure.

p-Aminobenzoessäure ist leicht in Wasser löslich. Es wurden zweimal je 1 g, mit Natronlauge neutralisiert, injiziert. (Versuchstabelle 10.) Aus dem Harn wurden 0,07 g einer Substanz vom Schmelzpunkt 241—248° gewonnen. Die Titration ergab einem Säuregehalt entsprechend 0,057 g Acetylaminobenzoessäure. Das Titrat zur Trockne eingedampft, zeigte positive Kakodylreaktion, ein Beiweis, daß Essigsäure darin enthalten

Tabelle 10 (Rüben).

Injektion von p-Aminobenzoesäure neutralisiert mit Natronlauge.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>verbindung               | Titration  | Andere<br>Substanzen                | Bemer-<br>kungen                             |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|--|
| 3. III.       | 2950              | 1                   | 140                   | alkalisch                  | 0,05 g,<br>Schmelzpunkt<br>248°     | 0,057 g<br>Das Titrat<br>zur Trockene<br>abgedampft, | 0,33 g ohne<br>Schmelzpunkt<br>also | Die Uramino-<br>benzoesäure<br>fällt vor der |
| 4.            | 2960              | 1                   | 120                   | „                          | 0,02 g,<br>Schmelzpunkt<br>241—246° | positive<br>Kakodyl-<br>reaktion                     | wohl Uramino-<br>benzoesäure<br>und | Acetylmino-<br>benzoesäure<br>aus dem        |
| 5.            | 2950              | —                   | 340                   | „                          |                                     |  | geringer Rest.                      | Äther aus.                                   |

Tabelle 11 (Hafer).

Injektion von p-Aminobenzoesäure.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung | Andere<br>Sub-<br>stanzen   | Bemerkungen   |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|---|---|
| 23. VI.       | 2210              | 1                   | 47                    |                            | 0,6 g                      | 0,01 g<br>Schmelz-<br>punkt<br>um 200°<br>schmierig.<br>Rest 0,6 g. | Das Tier starb an<br>Krämpfen in der<br>Hauptperiode<br>am 4. VII. nach<br>Zusatz von Brenz-<br>traubensäure. |
| 24.           | 2246              | 1                   | 53                    | Eiweiß —                   |                            |   |   |
| 25.           | 2220              | 1                   | 53                    |                            |                            |   |   |
| 26.           | 2240              | —                   | 20                    | Eiweiß —                   |                            |   |   |
| 27.           | 2240              | —                   | 82                    |                            |                            |   |   |
| 28.           | 2210              | —                   | 20                    | Eiweiß —                   |                            |   |   |
| 29.           | 2170              | —                   | 26                    |                            |                            |   |   |
| 30.           | 2206              | —                   | 24                    |                            |                            |   |   |
| 1. VII.       | 2200              | —                   | 44                    |                            |                            |   |   |

Tabelle 12 (Hafer).

Injektion von p-Aminobenzoesäure mit Natronlauge  
neutralisiert.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etw. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung | Andere<br>Substanzen   |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|--|
| 12. VI.       | 2380              | 1                   | 55                    |                            | 0,89 g                     | 0,15 g<br>Schmelzp. 180—210°.<br>0,02 g<br>Schmelzpunkt 170°.<br>Rest 0,26 g.<br>Schmelzp. 150—170°. |
| 13.           | 2378              | 1                   | 54                    | Eiweiß +                   |                            |  |
| 14.           | 2230              | 1                   | 60                    |                            |                            |  |
| 15.           | 2220              | —                   | 52                    |                            |                            |  |
| 16.           | 2170              | —                   | 40                    | Eiweiß +                   |                            |  |
| 17.           | 2190              | —                   | 55                    |                            |                            |  |
| 18.           | 2160              | —                   | 37                    |                            |                            |  |
| 19.           | 2250              | —                   | 46                    |                            |                            |  |

war. Die Ungenauigkeit des Schmelzpunktes und die geringe Ausbeute schienen wenig günstig zu quantitativen Versuchen. Spätere Versuche zeigten jedoch, daß es fast stets gelang, reine Substanz aus dem Äther zu gewinnen, und daß die Ausbeute von Acetylaminobenzoessäure eine sehr verschiedene war, in den meisten Fällen jedoch bedeutend größer als in den Vorversuchen. Nach Injektion von im ganzen 3 g bei Haferfütterung wurden aus dem Harn bei vier verschiedenen Tieren 0,6 g, 0,89 g, 0,82 g

Tabelle 13 (Hafer).  
Injektion von p-Aminobenzoessäure.

| Datum 1913 | Gewicht g | Injektion g | Harnmenge ccm | Reaktion Eiweiß etc. | Acetylverbindung                      | Andere Substanzen                              | Bemerkungen  |
|------------|-----------|-------------|---------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|
| 9.VII.     | 2800      | 1           | 115           |                      | 0,82 g und 0,05 g. Schmelzpunkt 230°. | 0,12 g. Schmelzpunkt um 170° und letzter Rest. | Das Kaninchen starb in der Hauptperiode am 17. VII. 1913 nach Injektion der ersten Portion von essigsäurem Natrium. Sektion o. B. Kaninchen vor dem Tode Opisthotonus. |
| 10.        | 2605      | 1           | 95            |                      |                                       |  |  |
| 11.        | 2491      | 1           | 120           |                      |                                       |  |  |
| 12.        | 2480      | —           | 118           |                      |                                       |  |  |
| 13.        | 2560      | —           | 40            | Eiweiß —             |                                       |  |  |
| 14.        | 2563      | —           | 67            | Aminos.—             |                                       |  |  |

Tabelle 14 (Hafer).  
a) Injektion von p-Aminobenzoessäure.

| Datum 1913 | Gewicht g | Injektion | Harnmenge ccm | Reaktion. Eiweiß etc. | Acetylverbindung  | Vermehrung absolut |   | Andere Substanzen                             |
|------------|-----------|-----------|---------------|-----------------------|---|--------------------|---|---|
|            |           |           |               |                       |   | g                  | % |   |
| 9. VII.    | 2170      | 1 g       | 50            |                       | 0,79 g, davon 0,03 g nur Schmelzpunkt 230° auf 1g Aminobenzoessäure berechnet = 0,26 g. | —                  | — | 0,17 g Schmelzpunkt 170° u. schmieriger Rest. |
| 10.        | 2135      | 1 „       | 53            |                       |   |                    |   |   |
| 11.        | 2040      | 1 „       | 90            |                       |   |                    |   |   |
| 12.        | 2090      | —         | 61            |                       |   |                    |   |   |
| 13.        | 2090      | —         | 79            | Spur E.               |   |                    |   |   |
| 14.        | 2080      | —         | 42            | Aminos.—              |   |                    |   |   |

b) Substanz in einzelnen Portionen gespritzt.

|         |      |                    |     |                  |        |      |       |   |
|---------|------|--------------------|-----|------------------|--------|------|-------|---|
| 1.VIII. | 1890 | 1 g in 4 Portionen | 120 |                  | 0,41 g | 0,15 | 57,69 | 0,01 g Schmelzpunkt 240° u. letzter Rest. |
| 2.      | 1830 | —                  | 50  |                  |        |      |       |   |
| 3.      | 1790 | —                  | 80  |                  |        |      |       |   |
| 4.      | 1790 | —                  | —   | Aminos.—<br>E. + |        |      |       |   |

und 0,76 g (0,79 g) Acetylamino-benzoesäure gewonnen. (Tabelle 11—14) Nach Injektion von 2 g ergaben sich folgende Werte: 0,14 g, 0,71 g, 0,08 g, 0,63 g und 0,61 g (Tabelle 15—19). Diese Unterschiede sind wohl vor allem durch individuelle Verschiedenheiten im Verhalten der Kaninchen bedingt. Die zugeführte Menge und deren Verhältnis zum Körpergewicht der Kaninchen scheint ohne wesentlichen Einfluß, wie die beiden folgenden Versuche zeigen. Bei Kaninchen 15 war die Ausbeute an Acetylamino-

Tabelle 15 (Hafer).  
p-Aminobenzoesäure.

| Datum<br>1913   | Ge-<br>wicht<br>g | Injektion               | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc.             | Acetyl-<br>verbindung                           | Vermehrung<br>absolut<br>g | %     | Andere<br>Substanzen  |
|---|-------------------|-------------------------|-----------------------|--|---|----------------------------|-------|---|
| a) Täglich 1 g der Substanz injiziert.                    |                   |                         |                       |  |   |                            |       |   |
| 9. X.   | 4310              | 1 g                     | 95                    | Aminos. —<br>E. schwach +              | 0,14 g<br>Schmelzp.<br>zwischen 245<br>und 250° | —                          | —     | 0,41 g<br>Schmelzpunkt<br>um 180°<br>u. letzter Rest.   |
| 10.   | 4330              | 1 >                     | 68                    |  |   |                            |       |   |
| 11.   | 4350              | —                       | 80                    |  |   |                            |       |   |
| 12.   | 4370              | —                       | 85                    |  |   |                            |       |   |
| 13.   | 4320              | —                       | —                     |  |   |                            |       |   |
| b) Täglich 2 g Substanz injiziert.                        |                   |                         |                       |  |   |                            |       |   |
| 15. X.  | 4300              | 2 g                     | 80                    | Aminos. —<br>E. + granul.<br>Zylinder  | 0,21 g<br>Schmelz-<br>punkt 251°.               | —                          | —     | 0,09 g<br>Schmelzpunkt<br>bis 300° nicht<br>vorhanden.<br>0,15 g<br>Schm. um 170°<br>u. letzter Rest. |
| 16.   | 4250              | 2 >                     | 100                   |  |   |                            |       |   |
| 17.   | 4100              | —                       | 77                    |  |   |                            |       |   |
| 18.   | 4130              | —                       | 74                    |  |   |                            |       |   |
| 19.   | 4160              | —                       | —                     |  |   |                            |       |   |
| Ein Grünfüttertag eingeschaltet.                          |                   |                         |                       |  |   |                            |       |   |
| c) Täglich die Substanz in einzelnen Portionen injiziert. |                   |                         |                       |  |   |                            |       |   |
| 24. X.  | 4250              | 2 g in 4 Por-<br>tionen | 85                    | Aminos. +<br>> +<br>> +<br>> —<br>E. + | 0,41 g<br>Schmelz-<br>punkt 246°.               | minde-<br>stens<br>0,11 g  | 36,67 | 0,52 g<br>Schmelzpunkt<br>um 200° und<br>letzter Rest.  |
| 25.   | 4320              | 2 > >                   | 185                   |  |   |                            |       |   |
| 26.   | 4225              | —                       | 90                    |  |   |                            |       |   |
| 27.   | 4220              | —                       | 73                    |  |   |                            |       |   |
| 28.   | 4215              | —                       | 85                    |  |   |                            |       |   |
| 29.   | 4215              | —                       | 100                   |  |   |                            |       |   |
| 30.   | 4200              | —                       | 110                   |  |   |                            |       |   |
| 31.   | 4130              | —                       | —                     |  |   |                            |       |   |

Tabelle 16 (Hafer).

p-Aminobenzoesäure.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g   | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc.  | Acetyl-<br>ver-<br>bindung              | Andere<br>Sub-<br>stanzen   | Bemerkungen   |
|---------------|---|---------------------|-----------------------|---|---|---|---|
| 22. IX.       | 2510  | 1                   | 85                    |   | 0.71 g<br>Schmelz-<br>punkt<br>248—251° | 0.12 g.<br>Schmelz-<br>punkt<br>zwischen<br>180—200°<br>und letzt.<br>Rückst. |   |
| 23.           | 2450  | 1                   | 55                    |   |   |   |   |
| 24.           | 2420  | —                   | 23                    |   |   |   |   |
| 25.           | 2395  | —                   | 30                    |   |   |   |   |
| 26.           | 2340  | —                   | —                     | Aminos. — E. +<br>Urin gallertig.<br>Salz-Zylinder in<br>großen Mengen;<br>phosphorsaurer und<br>oxalsaurer Kalk. |   |   |   |
|               |   |                     |                       | Grünfüttertag   |   |   |   |
| 28.           | Urin schwach alkal., Eiweiß wenig + und granuliert<br>Zylinder. Krystalle von Tripelphosphat. |                     |                       |   |   |   | Kaninchen starb am<br>Abend des 5. X. während<br>der Hauptperiode<br>nach Zusatz von essig-<br>saurem Natrium.<br>Sektion o. B. |
| 30.           | E. schwach, Spur +, alkal. Krystalle von Tripelphosphat.                                      |                     |                       |   |   |   |   |

Tabelle 17 (Hafer).

a) p-Aminobenzoesäure.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung                                     | Andere<br>Substanzen   | Bemerkungen |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|--|--|-------------|
| 22. IV.       | 3290              | 1                   | 60                    |                            | 0.07 g<br>Schmelzp.<br>250°<br>0.01 g<br>Schmelzp.<br>243—245° | 0.3 g<br>Schmelzp.<br>unter 170°<br>0.15 g<br>schmieriger<br>Rest. |             |
| 23.           | 3350              | 1                   | 50                    |                            |  |  |             |
| 24.           | 3385              | —                   | 27                    |                            |  |  |             |
| 25.           | 3260              | —                   | 42                    |                            |  |  |             |
| 26.           | 3210              | —                   | —                     | Aminos. —<br>E. Spur +     |  |  |             |
|               |                   |                     |                       |                            |  |  |             |

b) täglich 1,5 g Substanz.

|        |      |     |     |          |        |  |   |
|--------|------|-----|-----|----------|--------|--|---|
| 15. X. | 3070 | 1,5 | 100 |          | 0.17 g | 0.05 g<br>Schmelzp.<br>bis 295°<br>nicht<br>vorhanden,<br>letzter<br>Rückstand | Kaninchen<br>vertrug die<br>Substanz<br>sehr gut. |
| 16.    | 3030 | 1,5 | 100 |          |        |  |   |
| 17.    | 3005 | —   | 35  | gallert  |        |  |   |
| 18.    | 2950 | —   | 45  | ›        |        |  |   |
| 19.    | 2985 | —   | 70  | Aminos + |        |  |   |
| 20.    | 2960 | —   | 40  | › +      |        |  |   |
| 21.    | 2950 | —   | —   | › —      |        |  |   |
| 22.    | 2950 | —   | —   | Eiweiß + |        |  |   |

Tabelle 18 (Hafer).  
p-Aminobenzoesäure.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>verbindung                         | Andere<br>Substanzen   | Bemerkungen   |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|---|--|---|
| 3. X.         | 2180              | 1                   | 75                    | Aminos. —<br>E. schwach +  | 0,63 g<br>und 0,04 g<br>Schmelzp.<br>230—240° | 0,02 g<br>Schmelzp.<br>um 180°<br>0,25 g<br>schmierig.<br>Rest | Kaninchen starb<br>während der Haupt-<br>periode am 17. X.<br>unter Erstickungs-<br>krämpfen.<br>Die Sektion ergab<br>Perforation eines<br>Darmgeschwürs. |
| 4.            | 2100              | 1                   | 70                    |                            |   |  |   |
| 5.            | 2030              | —                   | 45                    |                            |   |  |   |
| 6.            | 2050              | —                   | 40                    |                            |   |  |   |
| 7.            | 2030              | —                   | —                     |                            |   |  |   |

Tabelle 19 (Hafer).  
p-Aminobenzoesäure.

| Datum<br>1913 | Ge-<br>wicht<br>g | Injek-<br>tion<br>g | Harn-<br>menge<br>ccm | Reaktion<br>Eiweiß<br>etc. | Acetyl-<br>ver-<br>bindung | Andere<br>Sub-<br>stanzen                                       | Bemerkungen                |
|---------------|-------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|---|----------------------------|
| 3. X.         | 2590              | 1                   | 65                    | Aminos. —<br>E. Spur +     | 0,61 g                     | 0,02 g<br>Schmelzp.<br>um 180°<br>0,18 g<br>schmierig.<br>Rest. | Grünfutternahrung dauernd. |
| 4.            | 2490              | 1                   | 73                    |                            |                            |   |                            |
| 5.            | 2460              | —                   | 50                    |                            |                            |   |                            |
| 6.            | 2400              | —                   | 55                    |                            |                            |   |                            |
| 7.            | 2320              | —                   | 50                    |                            |                            |   |                            |
| 8.            | 2235              | —                   | —                     |                            |                            |   |                            |
| 14. X.        | 1940              | —                   | —                     |                            |                            |   |                            |

benzoesäure nach Injektion von 2 g in Dosen von 1 g, 0,14 g und bei Injektion von 4 g in Dosen à 2 g 0,21 g vom Schmelzpunkt 251° und 0,09 g vom Schmelzpunkt 210—220°, bei Kaninchen 17 nach zweimaliger Injektion von 1 g 0,08 g Acetylaminobenzoesäure und nach zweimaliger Injektion von 1,5 g 0,17 g Acetylaminobenzoesäure. Von größerem Einfluß auf die Menge der acetylierten Verbindung war die Art und Weise, wie die Substanz zugeführt wurde. Die Ausbeute war größer, wenn die Aminobenzoesäure nicht in einer großen Dosis am Morgen, sondern in vier einzelnen Portionen über den ganzen Tag ver-

## Übersichtstabelle der quantitativen Versuche.

## a) Versuche mit p-Aminobenzaldehyd.

| Kaninchen | Futter                  | Menge der<br>zugeführt.<br>Substanz | Art der Einführung     | Gewonnene Acetylverbindung | Gepaarter Aminobenzaldehyd<br>resp. Aminobenzoesäure<br>absolut | %      |
|-----------|-------------------------|-------------------------------------|------------------------|----------------------------|---|--------|
| 5         | Rüben                   | 2 g                                 | subcutan Dosen von 1 g | 0,75 g (Titration 0,70 g)  | 0,47 g  | 23,5 % |
| 6         | „                       | 2 „                                 | „ „ „ 1 „              | 1,1 „ ( „ 1,05 „)          | 0,71 „  | 35,5 % |
| 7         | „                       | 4 „                                 | per os „ 0,5 „         | 2,45 „                     | 1,656 „   | 41,4 % |
| 8         | Grünfutter<br>und Rüben | 2 „                                 | „ „ „ 0,5 „            | 0,65 „                     | 0,439 „   | 21,9 % |
| 9a        | Hafer                   | 2 „                                 | „ „ „ 0,5 „            | 1,97 „                     | 1,331 „   | 66,5 % |
| 9b        | „                       | 2 „                                 | „ „ „ 0,5 „            | 1,87 „                     | 1,264 „   | 63,2 % |

## b) Versuche mit p-Aminobenzoesäure.

|     |       |     |                          |                               |                  |        |
|-----|-------|-----|--------------------------|-------------------------------|------------------|--------|
| 11  | Hafer | 3 g | subcutan Dosen von 1 g   | 0,6 g                         | 0,459 g          | 15,3 % |
| 12  | „     | 3 „ | „ „ „ 1 „                | 0,89 „                        | 0,681 „          | 22,7 % |
| 13  | „     | 3 „ | „ „ „ 1 „                | 0,82 „                        | 0,6276 „         | 20,9 % |
| 14a | „     | 3 „ | „ „ „ 1 „                | 0,76 „ (0,79 g)               | 0,581 „          | 19,4 % |
| 14b | „     | 1 „ | an 1 Tag in 4 Portionen  | 0,41 „                        | 0,313 „          | 31,3 % |
| 15a | „     | 2 „ | Dosen von 1 g            | 0,14 „ (Schmelzp. 245—250°)   | ungefähr 0,107 „ | 5,35 % |
| 15b | „     | 4 „ | „ „ „ 2 „                | 0,21 „ + 0,09 g (Schmp. 220°) | „ „ 0,229 „      | 5,58 % |
| 15c | „     | 4 „ | 8 Dosen in 2 Tag. v. 0,5 | 0,41 „                        | 0,313 „          | 7,82 % |
| 16  | „     | 2 „ | Dosen von 1 „            | 0,71 „                        | 0,543 „          | 27,2 % |
| 17a | „     | 2 „ | „ „ „ 1 „                | 0,08 „                        | 0,061 „          | 3,05 % |
| 17b | „     | 3 „ | „ „ „ 1,5 „              | 0,17 „                        | 0,130 „          | 4,33 % |
| 18  | „     | 2 „ | „ „ „ 1 „                | 0,63 „                        | 0,482 „          | 24,1 % |
| 19  | „     | 2 „ | „ „ „ 1 „                | 0,61 „                        | 0,466 „          | 23,3 % |

teilt injiziert wurde. Die Vermehrung betrug in 2 Versuchen 57,69% resp. 36,67%. (Versuchstabelle 14 u. 15.) Bei den Versuchen mit Aminobenzoesäure wurden anfangs auch 5 Nachtage verarbeitet; durch Anwendung einer Diazoreaktion für Aminobenzoesäure konnte das Ende ihrer Ausscheidung im Harn bestimmt werden. Die Nachausscheidung war verschieden lang, nämlich 1—4 Tage. Die Diazoreaktion ist folgendermaßen anzustellen: zu der zu untersuchenden Lösung fügt man 2—3 Tropfen konzentrierte Salpetersäure, 2—3 Tropfen 5%ige Kaliumnitritlösung und 3—4 Tropfen 10%ige alkoholische Lösung von  $\alpha$ -Naphthol. Dann erhitzt man kurze Zeit und fügt nach dem Erhitzen 10%ige Natronlauge hinzu. Eine rote Färbung zeigt Aminobenzoesäure an. Normaler Harn gibt eine Braunfärbung. Acetylaminobenzoesäure gibt ebenfalls eine Rotfärbung, doch in viel geringerer Intensität.

---