Quantitative Studien über Acetylierungsprozesse im Tierkörper.

II. Mitteilung.

Der Einfluß von Essigsäure, Brenztraubensäure und Acetessigsäure auf die Bildung von p-Acetylaminobenzoesäure.

Von

Marie Hensel.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie und experimentelle Pharmakologie zu Königsberg i. Pr. Direktor: Professor Ellinger.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. März 1915.)

Wie schon in der ersten Mitteilung[1]) erwähnt ist, schien es möglich, durch Verabreichung von p-Aminobenzoesäure (weniger von p-Aminobenzaldehyd) die Acetylierungsvorgänge im Organismus quantitativ zu verfolgen und vor allem durch gleichzeitige Darreichung geeigneter Substanzen etwas über den Acetylvorrat des Organismus zu erfahren sowie Anhaltspunkte zu gewinnen, welche Stoffe die Menge der zur Paarung disponiblen Essigsäure vermehren.

Um sichere Schlüsse aus den Versuchen ziehen zu können, war Bedingung, daß dasselbe Tier unter denselben Versuchsbedingungen zu verschiedenen Zeiten annähernd gleiche Mengen Acetylverbindung ausscheidet. Das ist in der Tat der Fall, wie es schon aus einigen Zahlen der ersten Mitteilung wahrscheinlich erschien, und wie es die Versuche der folgenden Tabellen wiederum beweisen, die nahezu die gleichen Werte in Vor- und Nachperiode zeigen. Die Versuche wurden so eingerichtet, daß zu einer Versuchsreihe 3 Perioden gehörten: 1. die Vorperiode, in welcher p-Aminobenzoesäure resp. Amino-

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 91, S. 21.

benzaldehyd allein dem Tier zugeführt wurden, 2. die Hauptperiode, in der der Aminobenzoesäure Essigsäure oder die auf Essigsäurebildung zu prüfende Substanz zugesetzt wurde, die das Tier stets in 3 Portionen, morgens, mittags und abends erhielt, 3. die Nachperiode, in welcher wieder Aminobenzoesäure resp. Aminobenzaldehyd allein dem Tiere gegeben wurde. Der Harn wurde stets nach der in der ersten Mitteilung angegebenen Weise verarbeitet.

I. Versuche mit p-Aminobenzoesäure.

a) Zugabe von Essigsäure.

Zunächst war zu prüfen, ob gleichzeitige Zufuhr von Essigsäure selbst zu einer vermehrten Ausscheidung von Acetylaminobenzoesäure führte. Es wurden deshalb (Versuchstabelle 1) einem Kaninchen in der Hauptperiode 6 g essigsaures Natrium täglich in 3 Portionen morgens, mittags, abends injiziert. Aus dem Harn wurden 0,29 g Acetylaminobenzoesäure vom Schmelzpunkt 250° gewonnen, während die Vorperiode 0,1 g und die Nachperiode nur 0,08 g vom Schmelzpunkt 251° und 0,1 g unreine Acetylaminobenzoesäure (Schmelzpunkt zwischen 235° und 240°) im ganzen also höchstens 0,18 g ergab. Auch in einer zweiten Nachperiode konnte aus dem Harn nur 0,19 g in Äther schwer lösliche Substanz, deren Schmelzpunkt zwischen 180 und 220° lag, gewonnen werden. Selbst wenn man die Annahme machen wollte, daß diese Substanz reine Acetylaminobenzoesäure gewesen wäre, würde demnach die Hauptperiode noch eine Vermehrung von 0,11 g, das heißt von 61,11% dieses maximalen Normalwertes aufweisen, die dem Zusatz von essigsaurem Natrium zuzuschreiben ist.

Ein zweiter Versuch mit Zusatz von essigsaurem Natrium wurde unter abweichenden Versuchsbedingungen angestellt (Versuchstabelle 2) erfordert daher eine ausführlichere Besprechung. Die Besonderheiten des Versuches lagen darin, daß 1. das Kaninchen Grünfutter erhielt, 2. der Versuch zu der Zeit angestellt war, als die in der I. Mitteilung beschriebene Probe auf Aminobenzoesäure im Harn noch nicht angewandt

wurde und daher noch an 5 Nachtagen der Harn mitverarbeitet wurde, 3. das Kaninchen, das zu dem Versuche benutzt wurde, gerade eine sehr geringe Menge Acetylverbindung lieferte. Aus diesen angeführten Gründen bietet der Versuch eine Reihe Fehlerquellen, die jedoch bei der Versuchsanordnung möglichst berücksichtigt worden sind. Wir glauben deshalb, diesen Versuch trotzdem mitzählen zu können.

Obgleich das Kaninchen in der Vorperiode im ganzen 8 g Aminobenzoesäure in Dosen zu 2 g erhalten hatte, konnten aus dem Harn nur 0,2 g Acetylverbindung isoliert werden (Schmelzpunkt 263°). Alle übrigen Portionen, die aus dem Äther gewonnen wurden, enthielten ihrem Schmelzpunkt nach ganz sicher keine Acetylverbindung. Die oben erwähnten 0,2 g waren anscheinend Acetylaminobenzoesäure zusammen mit Uraminobenzoesäure. Da Uraminobenzoesäure beim Kochen mit Schwefelsäure keine mit Wasserdämpfen flüchtigen Säuren abgibt, so konnte die in den 0,2 g enthaltene Acetylaminobenzoesäure durch Titration des Destillates bestimmt werden. Es ergab sich 0,121 g Acetylaminobenzoesäure.

In der Hauptperiode erhielt das Kaninchen im ganzen nur 4 g Aminobenzoesäure, da wir fürchteten, daß es eine gar zu lange Versuchsperiode nicht gut überstehen würde. Es wurden täglich 9 g essigsaures Natrium hinzugesetzt. Aus dem Äther krystallisierten 0,52 g Substanz vom Schmelzpunkt 230—35° aus, anscheinend mit Hippursäure verunreinigte Acetylaminobenzoesäure. Ebenso war wohl noch eine geringe Menge Acetylaminobenzoesäure in einer zweiten Portion von 0,03 g vom Schmelzpunkt 200° enthalten, die jedoch nicht weiter berücksichtigt wurde.

Um festzustellen, wieviel Acetylaminobenzoesäure mindestens in den 0,52 g enthalten war, wurde folgendermaßen verfahren. Von den 0,52 g wurden 0,3 g mit Schwefelsäure zersetzt und das Destillat titriert. Es verbrauchte zur Neutralisation 14 ccm $^n/_{10}$-KOH. Das würde 0,250 g Acetylaminobenzoesäure entsprechen. In dem Destillat war jedoch, wie aus der Verunreinigung der Substanz mit Hippursäure zu schließen war, Benzoesäure neben der Essigsäure enthalten.

Der Versuch, die Benzoesäure von der Essigsäure quantitativ zu trennen, schlug fehl. Das Destillat wurde zunächst eine halbe Stunde im Schüttelapparat mit Petroläther geschüttelt, doch die Titration von einem Teile der ausgeschüttelten Lösung zeigte unverminderten Säuregehalt. Es war also keine Benzoesäure in den Petroläther gegangen. Der Rest des Destillates wurde nun mit Äther ausgeschüttelt, obgleich durch Vorversuche festgestellt worden war, daß aus einer wässerigen Lösung von Benzoesäure und Essigsäure die Essigsäure zum Teil mit der Benzoesäure in den Äther übergeht. Es wurde so lange ausgeschüttelt bis eine Probe des Äthers beim Verdunsten keinen festen Rückstand mehr gab. Sicher war nun daß die Benzoesäure aus dem Destillat vertrieben war. (Aus dem Äther wurden nach dem Verdunsten 0,02 g Substanz vom Schmelzpunkt der Benzoesäure = 121° gewonnen.)

In der ausgeschüttelten Lösung war jetzt nur noch Essigsäure enthalten, doch nur ein Teil der ursprünglichen Menge. Die Titration der Lösung (= 1/2 der Menge des ursprünglichen Destillates) ergab einen Verbrauch von 4,3 ccm n/10-KOH. Der Säuregehalt der Lösung, berechnet auf die ursprüngliche Menge, entsprach also 0,1539 g Acetylaminobenzoesäure. Da nur 0,3 g zur Destillation verwandt waren, so waren in den 0,52 g mindestens 0,2667 g Acetylaminobenzoesäure enthalten. Dies war die Ausbeute nach Injektion von 4 g. Auf 8 g berechnet betrug sie also 0,5335 g, während in der Vorperiode nur 0,121 g gewonnen wurden. Die Erhöhung beträgt also mindestens 0,41 g = 341,66%. Daß die Ausscheidung der Acetylverbindung ceteris paribus annähernd der aufgenommenen Aminobenzoesäure proportional verläuft, ergibt sich aus den Beobachtungen, die in der I. Mitteilung in den Tabellen 15 und 17 niedergelegt sind.

In der Nachperiode wurden dem Tier ebenfalls 4 g injiziert. Es konnte trotz mehrmaligen Verreibens des Ätherrückstandes mit Äther keine Acetylverbindung isoliert werden; es ist jedoch nicht auszuschließen, sondern sehr wahrscheinlich, daß sich in dem Gesamtrückstand auch Acetylverbindung findet.

Beide Versuche mit Zusatz von essigsaurem Natrium in der Hauptperiode zeigen also eine Vermehrung der Acetylverbindung. Es darf demnach angenommen werden, daß eine Substanz, die im Körper intermediär in Essigsäure übergeht, gleichzeitig mit Aminobenzoesäure verabreicht, eine ausgiebigere Acetylierung veranlaßt.

Als solche Vorstufen der Essigsäure kommen, wie in der ersten Mitteilung ausgeführt wurde, vor allem Brenztraubensäure und Acetessigsäure in Betracht. Es wurden deshalb Versuche mit Zusatz dieser beiden Substanzen angestellt.

b) Zusatz von Brenztraubensäure.

Die beiden Versuche mit Zusatz von Brenztraubensäure in der Hauptperiode (Versuchstabellen 3 und 4) zeigen folgende Werte:

Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode
0,72 g	1,21 g	0,92 g
0,82 »	1,16 »	0,76 »
	und 0,02 »	und 0,12 »
	Schmelzp. 220—230°	Schmelzp. 230—235°.

Die Erhöhung hervorgerufen durch Brenztraubensäurezusatz beträgt also 32,73 resp. 31,52%. Bei Festsetzung der Vermehrung ist Acetylverbindung mit ungenauem Schmelzpunkt in der Hauptperiode stets fortgelassen, dagegen in der Vor- und Nachperiode stets zugerechnet. Außerdem ist die Erhöhung auf die größere Menge bezogen, also entweder auf die Vor- oder Nachperiode. Mit andern Worten: die berechnete Vermehrung stellt den Minimalwert dar, der aus den Versuchsresultaten gefolgert werden darf.

Um nachzuweisen, daß in der Tat stets die gesamte Menge der im Äther vorhandenen Acetylverbindung isoliert worden war, wurden in Versuch 4 in allen 3 Perioden alle anderen aus dem Äther gewonnenen Substanzen außer Acetylaminobenzoesäure mit Schwefelsäure behandelt und überdestilliert. Der Rückstand des Destillates ergab in jedem Fall negative Kakodylreaktion.

c) Zugabe von Acetessigester.

In gleicher Weise positiv wie die Versuche mit Brenztraubensäure sind auch die beiden Versuche mit Acetessigester ausgefallen. Versuchstabelle 5 zeigt folgende Werte:

Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode
0,49 g	0,58 g	0,33 g und 0,06 g Schmelzp. 235°.

In diesem Versuch ist die Erhöhung sehr gering = 18,38%; in Versuch 6 ist sie sehr viel deutlicher ausgesprochen (Versuchstabelle 6). Bei diesem Versuch bedarf die Zahl in der Nachperiode noch einer gesonderten Besprechung.

Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode	2. Nachperiode
0,25 g	0,5 g	0,47 g und 0,03 g Schmelzp. 220°	0,17 g

Wie aus der Tabelle zu ersehen, schließt sich die erste Nachperiode unmittelbar an die Hauptperiode an, und es ist deshalb wohl möglich, daß auch diese Nachperiode noch unter dem Einfluß des zugeführten Acetessigesters steht. Diese Annahme scheint berechtigt, da in der 2. Nachperiode die Ausbeute an Acetylaminobenzoesäure wieder bedeutend heruntergegangen ist. Die Einwirkung auf die Nachperiode ließe sich entweder so denken, daß die zugesetzte Acetessigsäure selbst im Organismus gespeichert und erst allmählich abgegeben wird, oder wahrscheinlicher in der Weise, daß die zugeführte Acetessigsäure zwar nicht als solche oder als Essigsäure im Organismus längere Zeit zirkuliert oder deponiert wird, daß aber acetylliefernde Substanz, die unter Mitwirkung der Acetessigsäure gebildet ist, noch längere Zeit nach der Einverleibung im Körper vorhanden ist. Man wird hier wieder an die in der ersten Abhandlung erwähnten Versuche von Wakeman und Dakin erinnert, die beim Stehen von Leberbrei mit Acetessigsäure nach Entfernung der unveränderten Substanz eine Vermehrung der hydrolytisch abspaltbaren Essigsäure fanden. Auch die später zu erwähnenden Versuche mit Aminobenzoldehyd sprechen mehr für die zweite Annahme.

Die Tatsache, daß sowohl Zusatz von Brenztraubensäure als auch Acetessigsäure die Acetylie-

rungsvorgänge steigert, machen es wahrscheinlich, daß tatsächlich Brenztraubensäure und Acetessigsäure im Organismus über Essigsäure abgebaut werden.

d) Zugabe von Acetaldehyd.

Der Abbau der Brenztraubensäure zu Essigsäure soll nach den Vermutungen einiger Forscher über Acetaldehyd erfolgen. Es wurde deshalb ein Versuch mit Zusatz von Acetaldehyd angestellt (Versuchstabelle 7). Die erhaltenen Mengen der Acetylverbindung aus allen 3 Perioden auf gleiche Mengen Aminobenzoesäure berechnet, waren annähernd gleich.

Vorperiode 0,76 g Acetylaminobenzoesäure und 0,03 g Schmelzpunkt 235° von 3 g Aminobenzoesäure. Auf 2 g Aminobenzoesäure berechnet = 0,52 g. Hauptperiode 0,6 g und Nachperiode 0,57 g und 0,01 g Schmelzpunkt 215°.

Der Versuch gestattet weder im positiven noch im negativen Sinne einen Schluß zu ziehen, ob der Acetaldehyd über Essigsäure im Zellstoffwechsel weiter verarbeitet wird. Es ist möglich, daß die zugefügten Gaben von Acetaldehyd zu gering waren, um eine Vermehrung der Acetylverbindung hervorzurufen. Das soll in späteren Versuchen entschieden werden (s. Übersichtstabelle 1).

II. Versuche mit p-Aminobenzaldehyd.

Der Aminobenzaldehyd eignet sich zu quantitativen Versuchen, wie sie im Vorhergehenden beschrieben sind, weniger als die Aminobenzoesäure, wie schon aus den Versuchen und Erörterungen der ersten Mitteilung zu entnehmen ist. Als schwer lösliche Substanz muß er in einer Emulsion mit Glycerin und Wasser subcutan injiziert oder mit der Schlundsonde gegeben werden. Beide Darreichungsweisen schaffen unsichere Resorptionsverhältnisse. Ferner bringt die notwendige Oxydation des Aldehyds zur Säure einen neuen unbekannten Faktor in die quantitativen Versuche und endlich ist die Acetylierung des Aldehyds schon ohne Beigabe von acetylliefernden Substanzen eine so weitgehende, daß auf eine vermehrte Aus-

Übersichtstabelle der Versuche mit p-Aminobenzoesäure.

Kaninchen	Futter	Zugesetzte Aminobenzoesäure g	Art der Einführung	Zugesetzte Essigsäure bildende Substanzen	Gewonnene Acetylverbindung g	Gepaarte Aminosäure absolut g	Gepaarte Aminosäure %	Vermehrung absolut g	Vermehrung %
1 a	Hafer	2	subc. Dos. à 1 g		0,1	0,076	3,8		
b	»	»	dito	12 g essigs. Natr. Dos. à 2 g	0,29	0,222	11,1	0,11 mind.	61,11
c	»	»	»		0,08 u. 0.1 g, Schm. 235—240°	zw. 0,061 u. 0.137	zw. 3,05 u. 6,85		
d	»	»	»		0,19 g, Schm. 180—220°	—	—		
2 a	Grünfutter	8	subc. Dos. à 2 g		0,121	0,092	1,15		
b	»	4	dito	27 g essigs. Natr. Dos. à 3 g	0,2667	0,204	5,1	0,41	341,66
c	»	4	»		—	—	—		
3 a	Hafer	2,8	subc. Dos. à 1,4 g		0,72	0,551	19,7		
b	»	»	dito	12 g Brenztraubens. Dos. à 2 g	1,21	0,926	33,07	0,29	31,52
c	»	»	»		0,92	0,704	25.14		
4 a	»	2	subc. Dos. à 1 g		0.82	0,627	31,35		
b	»	»	dito	12 g Brenztraubens. Dos. à 2 g	1,16	0,887	44,35	0,28	32,73
c	»	»	»		0,76 u. 0.12 g, Schm. 230—235°	zw. 0,581 u. 0,673	zw. 29,05 u. 33,65		
5 a	»	2	subc. Dos. à 1 g		0,49	0,375	18,7		
b	»	»	dito	9 ccm Acetessigester Dos. à 1,5 ccm	0,58	0,443	22,15	0,09	18,38
c	»	»	»		0,39	0,298	14,9		
6 a	»	»	»		0,25	0.191	9.55		
b	»	»	»	6 ccm Acetessigester Dos. à 1 ccm	0,5	0.382	19,1	0,25	100
c	»	»	»		0.47 u. 0.03 g, Schm. 220°	0,382	19.1	0,25	100
d	»	»	»		0,17	0.130	6,5		
7 a	»	3	»		0,79	0.604	20,1		
b	»	2	»	6 ccm Acetaldehyd Dos. à 1 ccm	0,6	0,459	22,9	—	—
c	»	»	»		0,58	0.443	22,15		

scheidung des Acetylproduktes bei Zugaben kaum mehr gerechnet werden kann. Wenn demnach die Resultate der Versuche mit Aminobenzaldehyd, die zeitlich den Versuchen mit der Säure vorausgingen, für sich allein nicht beweisend sind, so sind sie doch mit den Säureversuchen zusammengehalten zum Teil geeignet, diese zu stützen.

In Versuch 8 (Versuchstabelle 8) mit Zusatz von acetessigsaurem Äthyl wurden folgende Werte erhalten:

Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode
1.38 g	1.48 g	1,36 g

Der Grund für die geringe Steigerung (8,03%) liegt vielleicht in der nicht genügend großen Menge zugeführten Acetessigesters. Es war dies der erste Versuch mit Zusatz von Acetessigester, und da wir nicht wußten, wie das Tier die Substanz vertragen würde, wagten wir zunächst nicht, mehr zu geben. Bei Versuch 9 und 10 (Versuchstabellen 9 u. 10) wurden in der Hauptperiode essigsaures Natrium hinzugesetzt, bei Versuch 11 (Versuchstabelle 11) Brenztraubensäure. Die gefundenen Werte sind:

	Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode
9.	0,73 g	0,74 g	0,75 g
10.	1,1 »	1,25 »	1,43 »
11.	1,0 »	1,2 »	1,49 »

Versuch 9 zeigte in den 3 Perioden zu geringe Unterschiede, um Schlüsse zu ziehen. In den Versuchen 10 und 11 tritt in der Hauptperiode eine Steigerung auf, die sich noch in der Nachperiode fortsetzt.

Man könnte daran denken, diese Tatsache so zu erklären, daß die Tiere mit der Gewöhnung an zugeführten Aminobenzaldehyd mehr Acetylverbindung produzieren, doch sprechen die Zahlen einiger anderer Versuche sowohl dieser als auch der ersten Mitteilung gegen diese Annahme.

Die Menge der ausgeschiedenen Acetylverbindung bleibt vielmehr bei dem gleichen Individuum nach wiederholter Darreichung sowohl des Aldehyds als der Säure annähernd gleich. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre die, daß nach dem 5. Nachtage noch nicht alle gebildete Acetylverbindung aus-

geschieden ist, so daß in der Haupt- und Nachperiode Acetylaminobenzoesäure gewonnen wird, die teilweise noch von den vorangehenden Perioden herrührt. Diese Möglichkeit scheint deshalb ausgeschlossen, weil, wie schon in der ersten Mitteilung erwähnt ist, in 2 Versuchen die 6 Nachtage mit negativem Resultat auf Acetylaminobenzoesäure verarbeitet worden sind.

Es erscheint demnach am wahrscheinlichsten, daß es sich in den beiden Versuchen 10 und 11 ebenso wie in Versuch 6 um eine Beeinflussung der Nachperiode durch die zugeführte Essigsäure bildende Substanz in der Hauptperiode handelt, derart, daß Essigsäure liefernde Substanzen des Organismus aufgespeichert werden, und der Organismus infolgedessen auch noch in der Nachperiode über eine größere Acetylierungsmöglichkeit als in der Norm verfügt. Auch in den beiden Versuchen 10 und 11 schließt sich die Nachperiode unmittelbar an die Hauptperiode an.

Besteht diese Interpretation der Versuche zu Recht, so bestätigen die Aldehydversuche die Resultate der Erfahrungen mit Aminobenzoesäure trotz der ungünstigeren Chancen der Versuchsanordnung.

Übersichtstabelle der Versuche mit p-Aminobenzaldehyd.

Kaninchen	Futter	Zugesetzter Aminobenzaldehyd g	Art der Einführung	Zugesetzte Essigsäure bildende Substanzen	Gewonnene Acetylverbindungen g	Gepaarter Aminobenzaldehyd absolut g	Gepaarter Aminobenzaldehyd %	Vermehrung absolut g	Vermehrung %
8 a	Hafer	2	per os Dos. à 0,5 g	3 ccm Acetessigester Dos. à 0,5 g	1,37	0,926	46,3		
b	»	»	dito		1,48	1,0005	50	0,11	8,03
c	»	»	»		1,36	0,919	45,95		
9 a	Rüben	2	subc. Dos. à 1 g	12 g essigsaures Natr. Dos. à 2 g	0,73	0,493	24,65		
b	»	»	dito		0,74	0,500	25	—	—
c	»	»	»		0,75	0,507	25,35		
10 a	Rüben	2	subc. Dos. à 1 g	12 g essigsaures Natr. Dos. à 2 g	1,1	0,743	37,15		
b	»	»	dito		1,25	0,845	42,25	0,15	13,03
c	»	»	»		1,43	0,966	48,3	0,18	14,04
11 a	Rüben	2	subc. Dos. à 1 g	12 g Brenztraubensäure Dos. à 2 g	1,0	0,676	33,8		
b	»	»	dito		1,2	0,811	40,55	0,2	20
c	»	»	»		1,49	1,007	50,35	0,29	24,16

Versuchstabelle 1. (Haferfutter.)

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure mit Natronlauge neutralisiert.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß usw.	Acetylverbindung	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
20. VII. 13	3900	1 g p-A.	—	—	160					0,05 g Schmelzpunkt um 183°
21. » »	3990	dito	—	—	90					
22. » »	3892	—	—	—	55		0,1 g	—	—	0,25 g Schmelzpunkt um 180° und letzt. minim. Rest.
23. » »	3915	—	—	—	57	Aminos. — E. + Spur				
24. » »	3850	—	—	—	—					
b) Zusatz von essigsaurem Natrium.										
26. VII. 13	3900	1 g p-A. +2 g ess. Na.	2 g ess. Na.	2 g ess. Na.	84					0,08 g Schmelzpunkt bis 270° nicht vorhanden und letzter Rest.
27. » »	3920	dito	dito	dito	140			mind.		
28. » »	3960	—	—	—	120	Aminos. +	0.29 g	0,11 g	61,11	
29. » »	3940	—	—	—	—	Aminos. — E. +				
c) 1. Nachperiode.										
30. VII. 13	3900	1 g p.-A.	—	—	100		0,08 g Schmp. 251°			0,02 g Schmelzpunkt 180°
31. » »	3880	dito	—	—	105					
1. VIII. 13	3860	—	—	—	80	Aminos. +	0,1 g	—	—	
2. » »	3893	—	—	—	—	Aminos. — E. +	Schmelzp. 235—240°			
d) 2. Nachperiode.										
7. VIII. 13	Zahlen verloren	—	—	—	—	—	0,19 g Schmelzp. zwischen 180 u. 220°	—	—	0,16 g Schmelzpunkt bis 280° nicht vorhanden. 0,15 g Schmelzp. 180° ungef.
8. » »										
9. » »										
10. » »										

Versuchstabelle 2. (Grünfutter.)

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure mit Natronlauge neutralisiert.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß usw.	Acetylverbindung	Titration	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
17. IV. 13.	3266	2 g p-A.	—	—	382	—					
18. »	3201	2 » »	—	—	585	—					
19. » »	3030	2 » »	—	—	480	—					
20. »	3010	2 » »	—	—	375	—					0,17 g, Schmelzpunkt nicht vorhanden
21.	2981	—	—	—	540	—	0,2 g Schmelzp. 263°	0,121 g			
22. »	2980	—	—	—	530	—					0,27 g, Schmelzpunkt um 181° und letzter Rückstand harzig.
23. »	3014	—	—	—	650	—					=0,5 g, Schmelzpunkt um 110°.
24. » »	2977	—	—		710	—					
25. » »	3020	—	—	—	565	E —					
26. » »	3030	—	—	—	740	—					
b) Zusatz von essigsaurem Natrium.											
6. V. 13.	3120	2 g p-A + 3 g ess. Na.	3 g ess. Na.	3 g ess. Na.	200	Harn rot					
7. » »	3130	dito	dito	dito	260	E — Blut — keine Cylind. keine Kryst.					
8. » »	3105	3 g ess. Na.	3 g ess. Na.	3 g ess. Na.	285						
9. » »	3060	—	—	—	370		0,52 g Schmelzpunkt 230—235°	mindestens 0,2667 g auf 8 g Aminobenz. berechnet = 0,5335 g	0,41 g	341,66	0,03 g, Schmelzpunkt um 200°
10. » »	3070	—	—	—	430						1,47 » » » 180°
11. » »	3092	—	—	—	220						0,5 g, letzter Rest Schmelzpunkt um 160°
12. » »	3030	—	—	—	340						
13. » »	2690	—	—	—	134						
14. » »	2595	—	—	—	—						
c) Nachperiode.											
27. V. 13.	2500	2 g p-A.	—	—	490						
28. » »	2630	2 » »	—	—	360		Nichts aus dem Äther ausgefällten Mehrmaliges Verreiben des Ätherrückstandes nützte nichts.				
29. » »	2591	—	—	—	570						
30. » »	2630	—	—	—	520						
31. » »	2800	—	—	—	545						Gesamtrückstand 5,8 g
1. VI. »	2713	—	—	—	570						
2. » »	2667	—	—	—	395						
3. » »	2715	—	—	—	460	Aminos. —					

Versuchstabelle 3

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure (Haferfutter.)

mit Natronlauge neutralisiert.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß usw.	Acetylverbindung	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
20. X. 13	2960	1.4 g p-A.	—	—	50					
21. » »	2870	1,4 g p-A.	—	—	63					
22. » »	2840	—	—	—	40					0,08 g
23. » »	2810	—	—	—	60		0,72 g	—	—	Schmelzpunkt 170° ungefähr
24. » »	2825	—	—	—	—	Aminos. —				und letzter Rest
1 Grünfuttertag						E. + keine Cylinder.				

b) Zusatz von Brenztraubensäure (mit Natronlauge neutralisiert).

28. X. 13	—	—	—	—	—					
29. » »	2850	1,4 g p-A. + 2 g Brztr.	2 g Brztr.	2 g Brztr.	110	E. +				
30. » »	2850	dito	dito	dito	225					
31. » »	2930	—	—	—	82					
1. XI. 13	2980	—	—	—	105		1,13 g und 0,08 g Schmelzp. 245°	mind. 0,29 g	31,52	0,15 g Schmelzpunkt 180—185° und letzter Rest
2. » »	2880	—	—	—	85	Aminos. +	Summa 1,21 g			
3. » »	2850	—	—	—	50	Aminos. +				
4. » »	2810	—	—	—	—	Aminos. — E. +				
1 Grünfuttertag										

c) Na[illegible] periode.

15. XI. 13	2950	1,4 g Subst.	—	—	95					
16. » »	2870	1.4 g Subst.	—	—	83					
17. » »	2900	—	—	—	73					0,15 g
18. » »	2950	—	—	—	63		0,92 g	—	—	Schmelzpunkt um 170°
19. » »	2930	—	—	—	—					und letzter Rest
						Aminos. — E. + granulierte Cylinder				

Versuchstabelle 4. (Haferfutter.)

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure neutralisiert mit Natronlauge.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß Aminosäure	Acetylverbindung	Vermehrung absol.	Vermehrung %	Andere Substanz	Bemerkungen
8. X. 13.	2640	1 g	—	—	50						Beide Portionen mit 10 ccm H_2SO_4 zersetzt und überdestilliert bis zum Verschwinden der sauren Reaktion. Das Destillat verbraucht zur Titration 16,5 ccm n/10-KOH. Der Säuregehalt entspricht also 0,2 g Benzoesäure. Das Schrot zur Trockene eingedampft zeigt negative Kakodylreaktion.
9. » »	2580	1 »	—	—	65						
10. » »	2570	—	—	—	80						
11. »	2560	—	—	—	80		0,82			0,1 g Schmelzpunkt 177° schmieriger Rest von unfähr 0,2 g	
12. » »	2530		—	—	—	Aminos. —					
1 Grünfuttertag						E schwach +					

b) Zusatz mit Brenztraubensäure mit Natronlauge neutralisiert.

16. X. 13.	2520	1 g Substanz + 2 g Brztr.	2 g Brztr.	2 g Brztr.	110						
17. »	2580	dito	dito	dito	235	keine Redukt.					
18. » »	2440	—	—	—	130						
19.	2250	—	—	—	110						
20. » »	2140	—	—	—	100	Aminos. +	1,16 g und 0,02 g Schmelzp. 220–230°	mind. 0,28 g	32,73	0,15 g schmieriger Rest	Ebenso behandelt wie a. Kakodylreaktion — Säuregehalt = 8,2 ccm n/10-KOH.
21. » »	2030	—	—	—	135	» +					
22 » »	1860	—	—	—	—	» —					
1 Grünfuttertag						Indikan + E + Sargdeckelkryst.					
27. X. 13.	2170	—	—	—	—						
29. » »	2320		—	—							

c) Nach- periode.

31. X. 13.	2300	1 g Substanz	—	—	92					0,12 g Schmelzpunkt 180° u. schmieriger Rest von unfähr 0,2 g	Behandelt wie a. Säuregehalt = 9,2 ccm n/10-KOH Kakodylreaktion
1. XI.	2350	1 »	—	—	75		0,76 g und 0,12 g Schmelzpunkt 230–235°				
2. »	2320		—	—	90						
3. »	2300	—	—		110						
4. »	2360	—		—	—	Aminos. — E +					

Versuchstabelle 5 (Haferfutter.)

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure mit Natronlauge neutralisiert.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß Aminosäure	Acetylverbindung	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
16. X. 13	—	—	—	—	—	E. Spur + Sargdeckelkrystalle.				
17.	2390	1 g p-A.	—	—	40					0,06 g Schmelzpunkt bis 290° nicht vorhanden.
18. »	2370	1 »	—	—	45					
19. »	2360	—	—	—	40		0,49	—	—	
20. »	2380	—	—	—	40					0,05 g Schmelzpunkt um 160° und letzter minimaler Rückstand.
21.	2320	—	—	—	80	Aminos. +				
22. »	2380	—	—	—	60	Aminos. +				
23. »	2360	—	—	—	—	Aminos. — E. +				
Grünfuttertag										

b) Zusatz von Acetessigester.

26. X. 13	—		—	—	—	E. Spur +				
27. »	2400	1 g p-A. + 1,5 ccm Acet.	1,5 ccm Acet.	1,5 ccm A.	40					0,06 g Schmelzpunkt bis 280° nicht vorhanden.
28. »	2340	dito	dito	dito	40	gallertig				
29.	2250	—	—	—	30		0,58	0,09 g	18,38	
30. »	2300	—	—	—	20	Aminos. +				0,06 g Schmelzpunkt um 170° und letzter Rückstand.
31. » »	2320	—	—	—	45	Aminos. +				
1. XI. 13	2320	—	—	—	30	Aminos. +				
2. »	2270	—	—	—	—	Aminos. — E. +				
Grünfuttertag										

c) Nachperiode.

15. XI. 13	2330	1 g p-A.	—	—	60					
16. »	2330	1 »	—	—	63					
17.	2330	—	—	—	50					
18.	2340	—	—	—	35		0,33 g und 0,06 g Schmelzpunkt 235°	—	—	0,04 g Schmelzpunkt um 180° und letzter Rest.
19.	2310	—	—	—	25	Aminos. +				
20.	2320	—	—	—	—	Aminos. — E. Spur + Sargdeckelkrystalle.				

Versuchstabelle 6. (Haferfutter.)

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß Aminosäure	Acetylverbindung	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
19. VII. 13	2005	1 g	—	—	83					
20. » »	1996	1 »	—	—	70					Geringer Rückstand.
21. » »	2010	—	—	—	60		0,25 g	—	—	Mit Äther verrieben.
22. » »	2080	—	—	—	33					Alles geht in den Äther.
23. » »	2067			—	—	Spur E. Aminos.				
b) Zusatz von Acetessigester.										
26. VII. 13	2120	1 g p-A. + 1 ccm Acetess.	1 ccm Acet.	1 ccm Acet.	90	Acetess. —				
27. » »	2080	dito	dito	dito	210	Acetess. —	0,5 g	0,25 g	100%	Letzter geringer Rückstand.
28. » »	2090	—	—	—	110	Acetess. —				
29. » »	2120		—	—	—	E. + Aminos. —				
c) Substanz allein.										
30. VII. 13	2100	1 g p-A.			82					
31. » »	2090	1 » »		—	105		0,47 g und 0,03 g Schmelzp. 220°			0,02 g Schmelzpunkt 180° und letzter geringer Rest.
1. » »	2070	—	—	—	85			0,25 g	100%	
2. » »	2093	—	—	—	—	Aminos. — E. Sp. +				
d) 2. Nachperiode.										
7. VIII. 13	—	1 g		—	(Die Zahlen verloren)	—	0,17 g	—	—	0.14 g, Schmelzpunkt nicht vorhanden
8. » »	—	1 »	—	—						0,22 g Schmp. um 170° u. letzter minimaler Rest.
9. » »	—	—	—	—						
10. » »		—	—	—						

Versuchstabelle 7. (Haferfutter.)

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure (mit Natronlauge neutralisiert).

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß Aminosäure	Acetylverbindung	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
9. VII. 13	2170	1 g p-A.	—	—	50		0,76 g und 0,03 g Schmlzp. 230°			
10. » »	2135	1 » »	—	—	53					0.17 g Schmelzpunkt 170° und schmieriger Rest.
11. » »	2040	1 » »	—	—	90			—	—	
12. » »	2090	—	—	—	61		Auf 2 g Aminobenzoesäure berechnet 0,52 g			
13. » »	2090	—	—	—	79	Spur E. Aminos.				
14. » »	2080	—	—	—	42					
b) Zusatz von Acetaldehyd.										
16. VII. 13	2047	1 g p-A. + 1 ccm Acetald.	1 ccm Acet.	1 ccm Acet.	81					
17. » »	1960	dito	dito	dito	60					0,04 g Schmelzpunkt 187° und letzter Rückstand.
18. » »	1895	—	—	—	63	—	0.6 g	—		
19. » »	1817	—	—	—	120					
20. » »	1770	—	—	—	—		Aminos. —			
c) Substanz allein.										
27. VII. 13	2040	1 g p-A.	—	—	60					
28. » »	1960	1 » »		—	40		0,57 g und 0,01 g Schmlzp. 215°			Letzter minimaler Rückstand
29. » »	1960	—	—	—	30			—	—	
30. » »	1940	—	—	—	25	Aminos. +				
31. » »	1940	—	—	—	—	Aminos. —				

Versuchstabelle 7. (Haferfutter.)

a) Injektion von p-Aminobenzoesäure (mit Natronlauge neutralisiert).

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß Aminosäure	Acetylverbindung	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
9. VII. 13	2170	1 g p-A.	—	—	50		0,76 g und 0,03 g Schmlzp. 230°			
10. » »	2135	1 » »	—	—	53					
11. » »	2040	1 » »	—	—	90					0.17 g Schmelzpunkt 170° und schmieriger Rest.
12. »	2090	—	—	—	61		Auf 2 g Aminobenzoesäure berechnet 0,52 g	—	—	
13. » »	2090	—	—	—	79	Spur E. Aminos.				
14. » »	2080	—	—	—	42					
b) Zusatz von Acetaldehyd.										
16. VII. 13	2047	1 g p-A. + 1 ccm Acetald.	1 ccm Acet.	1 ccm Acet.	81					
17. » »	1960	dito	dito	dito	60					0,04 g Schmelzpunkt 187° und letzter Rückstand.
18. »	1895	—	—	—	63	—	0.6 g	—		
19. » »	1817	—	—	—	120					
20. » »	1770	—	—	—	—		Aminos. —			
c) Substanz allein.										
27. VII. 13	2040	1 g p-A.	—	—	60					
28. » »	1960	1 » »	—	—	40					
29. » »	1960	—	—	—	30		0,57 g und 0,01 g Schmlzp. 215°	—	—	Letzter minimaler Rückstand
30. » »	1940	—	—	—	25	Aminos. +				
31. » »	1940	—	—	—	—	Aminos. —				

Versuchstabelle 8. (Haferfutter.)

a) Emulsion vom p-Aminobenzaldehyd in Glycerin und Wasser (innerlich).

Datum	Gewicht g	Fütterung	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Eiweiß usw.	Acetylverbindung	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
29. V. 13.	2400	0,5 g p. Ambzald.	—	—	—	115					
30. » »	2356	dito	—	—	—	66					
31. » »	2360	»	—	—	—	82					
1. VI. »	2330	»	—	—	—	77					0,18 g, Schmelzpunkt 190°
2. » »	2280	—	—	—	—	50		1,37 g	—	—	Rest 0,22 g, Schmelzpunkt
3. » »	2250	—	—	—	—	50		(Titrat. 1,33 g)			um 170°
4. » »	2285	—	—	—	—	60	E +				(im Vakuum getrocknet)
5. » »	2300	—	—	—	—	60					
6. » »	2370	—	—	—	—	78					
7. » »	2330	—	—	—	—	54					
b) Zusatz von acetessigsaurem Äthyl.											
9. VI. 13.	2340	0,5 g p-A	0,5 ccm Acetessigester	0,5 ccm Acetessigester	0,5 ccm Acetessigester	98					
10. » »	2220	0,5 » »	dito	dito	dito	95					
11. » »	2206	0,5 » »	»	»	»	92					
12. » »	2205	0,5 » »	»	»	»	115					
13. » »	2150	—	—	—	—	50	E +				
14. » »	2150	—	—	—	—	40					Rest 0,4 g
15. » »	2180	—	—	—	—	58					(im Vakuum getrocknet)
16. » »	2160	—	—	—	—	50	E +	1,48 g	0,11 g	8,03	Schmelzpunkt um 170°
17. » »	2130	—	—	—	—	42	E + hyal. Cyl.				
18. » »	2135	—	—	—	—	45					
19. » »	2120	3 Grünfuttertage				—	E +				
20. » »	—	—	—	—	—	—	E +				
21. » »	—	—	—	—	—	—	E —				
24. » »	—	—	—	—	—	—					
c) Substanz allein.											
25. VI. 13.	2210	0,5 g	—	—	—	76					
26. » »	2280	0,5 »	—	—	—	76	E —				
27. » »	2260	0,5 »	—	—	—	69					
28. » »	2210	0,5 »	—	—	—	92	E +				0,35 g, Schmelzpunkt 170°
29. » »	2220	—	—	—	—	47		1,36 g	—	—	Rest 0,17 g, Schmelzpunkt
30. » »	2250	—	—	—	—	49		(Titrat. 1,30 g)			zwischen 160 und 180°
1. VII. »	2215	—	—	—	—	46					
2. » »	2230	—	—	—	—	60					
3. » »	2235	—	—	—	—	47	E +				
4. » »	2280	—	—	—	—	57					

Versuchstabelle 9

(Rübenfutter.)

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Reaktion	Acetylverbindung	Titration	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen
a) p-Aminobenzaldehyd-Emulsion in Glycerin und Wasser. Injektion.											
3. I. 13	3210	1 g p-Aminobenzaldehyd	—	—	410	alkalisch					
4. »	3310	dito	—	—	400						
5. »	3240	—	—	—	190						
6. » »	3230	—	—	—	150		0,73 g	Bestimmung mißglückt.	—	—	0,1 g sehr harzige Substanz.
7. » »	3360	—	—	—	440						
8. » »	3220	—	—	—	175						
9. » »	3355	—	—	—	320						
b) Zusatz von essigsaurem Natrium.											
10. I. 13	3360	1 g Sub. + 2 g essigs. Na.	2 g essigs. Na.	2 g essigs. Na.	440	alkalisch					
11. » »	3210	dito	dito	dito	100	»					
12. »	3220	—	—	—	280	»					
13. »	3150	—	—	—	320	»	0,74 g	0,69 g	—	—	Geringer harziger Rest.
14. » »	3190	—	—	—	410	»					
15. » »	3150	—	—	—	280	»					
16. » »	3030	—	—	—	570	»					
c) Substanz allein.											
17. I. 13	3290	1 g p-Aminobenzaldehyd	—	—	340	alkalisch					
18. » »	3030	dito	—	—	170	»					
19. » »	2960	—	—	—	208	»					
20. » »	3140	—	—	—	410	»	0,75 g	0,70 g	—	—	Geringer harziger Rückstand.
21. » »	3100	—	—	—	520	»					
22. » »	3010	—	—	—	425	»					
23. » »	3020	—	—	—	420	»					

Versuchstabelle 10. (Rübenfutter.)

a) p-Aminobenzaldehyd-Emulsion in Glycerin und Wasser. Injektion.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Reaktion	Acetylverbindung	Titration	Vermehrung absol.	Vermehrung %	Andere Substanz	Bemerkungen
16. I. 13	2330	1 g p-Aminobenzaldehyd	—	—	300	alkalisch						
17. » »	2220	dito	—	—	80	amphot.						Da bei der ersten Ausschüttelung sehr wenig Äther genommen war, schied sich an der Grenze ein Niederschlag von 2,9 g aus. Darin konnten Sulfate und Kalium nachgewiesen werden. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst, angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt.
18. » »	2140	—	—	—	42	»					nur minimaler Rest	
19. » »	2150	—	—	—	50	alkalisch	1,1 g	1,05 g	—	—		
20. » »	2150	—	—	—	150	»						
21. » »	2130	—	—	—	245	»						
22. » »	2150	—	—	—	325	»						
23. » »	2140	—	—	—	300	»						

b) Zusatz von essigsaurem Natrium.

24. I. 13	2240	1 g p-Amb. + 2 g essigs. Na.	2 g essigs. Na.	2 g essigs. Na.	150	alkalisch						
25. »	2100	dito	dito	dito	80	»						
26. » »	2060	—	—	—	100	»						
27. » »	2090	—	—	—	125	»	1,25 g	1,22 g	0,15 g	13,03	dito	An der Grenze ebenfalls ein Niederschlag von 0,95 g der ebenso behandelt wurde wie bei a
28. » »	2200	—	—	—	225	»						
29. » »	2080	—	—	—	150	»						
30. » »	2090	—	—	—	360	»						

c) Substanz allein.

31. I. 13	2027	1 g p-Aminobenzaldehyd	—	—	140	alkalisch						
1. II. 13	2078	dito	—	—	150	»						
2. » »	2030	—	—	—	130	»						
3. » »	1950	—	—	—	150	»	1,43 g	1,378 g	0,18 g	14,4	»	An der Grenze Niederschlag von 1,8 g
4. » »	2000	—	—	—	270	»						
5. » »	2000	—	—	—	260	»						
6. » »	2000	—	—	—	145	»						

Versuchstabelle 11. (Rübenfutter.)

a) Emulsion von p-Aminobenzaldehyd in Glycerin und Wasser. Injektion.

Datum	Gewicht g	Injektion morgens	Injektion mittags	Injektion abends	Harnmenge ccm	Reaktion	Acetylverbindung	Titration	Vermehrung absolut	Vermehrung %	Andere Substanzen	Bemerkungen
3. II. 13.	2240	1 g p-Aminobenzaldehyd	—	—	270	alkalisch						
4. »	2250	dito	—	—	215	»						
5. »	2130	»	—	—	225	»					Nur minimaler Rückstand	An der Grenze schied sich ein Niederschlag von 0,75 g aus. Darin konnten Sulfate und Kalium nachgewiesen werden.
6. »	2320	»	—	—	245	»	1 g	0,959 g				
7. »	2400	»	—	—	350	»						
8. »	2290	»	—	—	182							
9. »	2330	»	—	—	305	»						
10. »	2346	»	—	—	330	»						
b) Zusatz von Brenztraubensäure neutralisiert mit Natronlauge.												
11. II. 13.	2346	1 g p-A. + 2 g Brenztr.	2 g Brenztr.	2 g Brenztr.	110	alkalisch						
12. »	2310	dito	dito	dito	200	»						
13. »	2400	—	—	—	400						Nur minimaler Rückstand	An der Grenze ein Niederschlag von 0,34 g, sehr schwarz, darin konnten Sulfate und Kalium nachgewiesen werden.
14. »	2300	—	—	—	180		1,2 g	1,145 g	0,2 g	20		
15. »	2290	—	—	—	130	»						
16. »	2310	—	—	—	380	»						
17. »	2310	—	—	—	440							
18. »	2230	—	—	—	180							
c) Substanz allein.												
19. II. 13.	2310	1 g Aminobzald.	—	—	400	alkalisch						
20. »	2310	dito	—	—	200							
21. »	2320	—	—	—	210	»					Nur minimaler Rückstand	An der Grenze nur geringe Verunreinigungen.
22. »	2350	—	—	—	380	»	1,49 g	1,403 g	0,29 g	24,16		
23. »	2390	—	—	—	300	»						
24. »	2250	—	—	—	440							
25. »	2320	—	—	—	530							
26. »	2350	—	—	—	320							