

Über die Entstehung der Ameisensäure im Organismus.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chem. Abt. des Patholog. Instituts der Universität Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 9. Dezember 1918.)

Nach den übereinstimmenden Angaben verschiedener Autoren kommen kleine Mengen bzw. Spuren von Ameisensäure im Harn des Menschen, Hundes und Kaninchens vor¹⁾.

Bezüglich der Entstehung derselben im Organismus haben Steppuhn und Schellbach²⁾ nachgewiesen, daß bei Hunden nach Verfütterung von Traubenzucker eine Vermehrung der Ameisensäure eintritt, während sich das gleiche bei Kaninchen nicht nachweisen ließ³⁾. Die Steigerung der Ameisensäure nach Verfütterung von Glukose bezeichnen die genannten Autoren als beträchtlich, sie ist es auch im Vergleich zu der Ausscheidung an den vorangegangenen zuckerfreien Tagen. An diesen betrug sie im Durchschnitt 2,7 mg p. d., an den Fütterungstagen 11,8—12,6—13,2—17,7, also im Mittel 13,8 mg täglich. Man wird gewiß Steppuhn und Schellbach beistimmen, wenn sie sagen: „Durch den Hundeversuch ist also ein Zusammenhang zwischen Glukosezufuhr und Ameisensäureausscheidung wahrscheinlich gemacht.“ Ja, ich glaube sogar, daß man etwas weiter gehen kann und statt „wahrscheinlich gemacht“ sagen kann: „nachgewiesen“. Indessen ist doch nicht zu übersehen, daß absolut genommen die Ausscheidung

¹⁾ Vgl. Neuberg: Der Harn usw. S. 227 u. ff. und Neubauer-Huppert 11. Aufl. S. 197.

²⁾ Steppuhn und Schellbach, Diese Zeitschr. Bd. 80 S. 275 (1912).

³⁾ Auf die Bildung nach Einführung heterogener Substanzen soll hier nicht eingegangen werden.

sich doch in recht bescheidenen Grenzen hält und daß die Prüfung anderer durch die Nahrung eingeführter oder im Organismus dauernd entstehender Substanzen auf die Fähigkeit der Ameisensäurebildung durch die Versuche von Steppuhn und Schellbach nicht überflüssig gemacht erscheint.

Ehe ich auf diesen Punkt eingehe, sei noch ein Wort gesagt über die Vorgänge, welche sich nach der Ansicht von Steppuhn und Schellbach bei der Ameisensäurebildung aus Zucker abspielen. Steppuhn und Schellbach schließen sich dem Schema an, das Schade¹⁾ für die Alkoholgärung des Zuckers aufgestellt hat, nach welchem die gärungsfähigen Zuckerarten durch unbekannte Zwischenstufen hindurch Milchsäure bilden und diese dann im Acetaldehyd und Ameisensäure zerfällt. Es ist hier nicht der Ort, die Theorie von Schade zu diskutieren, nur beiläufig sei erwähnt, daß die Annahme konstanter Milchsäurebildung bei der Alkoholgärung, als wesentlicher Teil derselben, kaum noch von jemand aufrechterhalten wird und daß nach diesem Schema jede Alkoholgärung gleichzeitig zur Essigsäurebildung führen müßte, was bekanntlich nicht der Fall ist. Eine Stütze für die Annahme der Ameisensäurebildung aus Milchsäure sehen die Verf. in dem weitverbreiteten Vorkommen der Milchsäure²⁾ im Organismus. Ich habe vor einiger Zeit gelegentlich darauf hingewiesen, daß mir eine andere Annahme zur Erklärung der Ameisensäurebildung aus Zucker weit näherliegend scheint³⁾, nämlich die Bildung von Formaldehyd, der außerhalb des Organismus als Oxydationsprodukt des Zuckers zu beobachten ist und im Organismus bekanntlich sehr leicht zu Ameisensäure oxydiert wird. Diese Vorstellung würde an Wahrscheinlichkeit gewinnen, wenn es gelänge, Ameisensäurebildung aus einer anderen im Organismus vorkommenden Substanz festzustellen, die außerhalb des Organismus auch Formaldehyd bildet und von der

¹⁾ Es sei bezüglich desselben auf S. 275 der Arbeit von Steppuhn und Schellbach verwiesen.

²⁾ Die zweifellos von Traubenzucker abstammt (Hoppe-Seyler, Araki, v. Fürth u. a.)

³⁾ E. Salkowski, *Bioch. Zeitschr.* Bd. 67 S. 354.

nicht anzunehmen ist, daß sie im Organismus Milchsäure bildet, nämlich das Glycerin. Man wird nicht einwenden können, daß freies Glycerin im Organismus ja nicht vorkommt oder höchstens in Spuren. Dieser Einwand wird dadurch hinfällig, daß es regelmäßig im Darmkanal durch Spaltung der Fette entsteht und daß augenscheinlich der Organismus die Fähigkeit hat, Glycerin auf unbekanntem Wege zu bilden. Dies geht aus den Versuchen von J. Munk hervor, der bei Hunden durch Verfütterung von Fettsäuren reichlichen Ansatz von Neutralfett bewirken konnte. Auch die Fähigkeit des Organismus, Lecithin zu bilden, ist wohl nicht zu bezweifeln. Ergab sich bei Verfütterung von Glycerin keine wesentliche Steigerung des Ameisensäuregehaltes des Harns, so lag darin eine Stütze der Anschauung von Steppuhn und Schöllbach, im anderen Falle aber verlor sie an Wahrscheinlichkeit, wenigstens lag dann kein Grund mehr vor, die Glukose als Hauptmuttersubstanz der Ameisensäure anzusehen. Dies waren die Gründe, die mich seinerzeit zu einem Fütterungsversuch mit Glycerin veranlaßt haben. Derselbe liegt sehr weit zurück, er wurde im Beginn des Krieges angestellt. Da es mir nicht möglich war, weitere Versuche anzustellen, eine Aussicht dazu auch nicht besteht, teile ich ihn mit, um ihn nicht ganz verloren gehen zu lassen.

Vorher muß ich die Versuche über die Oxydation des Glycerins außerhalb des Organismus mitteilen. Rosenthaler und ich¹⁾ haben gleichzeitig und unabhängig voneinander gefunden, daß das Glycerin bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat reichlich Formaldehyd liefert. Da ich meine Versuche gleichzeitig mit Rosenthaler angestellt habe, ist meine Versuchsanordnung eine etwas andere als die von Rosenthaler. Ich teile zunächst meine Versuche mit, die bis auf einen schon etwa 5 Jahre zurückliegen. Meine Absicht bei Anstellung der Versuche war, das Maximum der Formaldehydbildung kennen zu lernen. Das Glycerin, das zu den

¹⁾ Rosenthaler, Archiv der Pharmazie Bd. 251 S. 587 (1914) und E. Salkowski, Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungsmittel Bd. 28 S. 225 und Bioch. Zeitschr. Bd. 67 S. 354 (1914).

Versuchen diente, war reinstes des D. A. B 5 von 1,23 D mit ungefähr 86% wasserfreiem Glycerin. In den einzelnen Versuchen ist die Umrechnung auf wasserfreies Glycerin nicht vorgenommen worden. Zur Bestimmung des Formaldehyds diente, wo nichts anderes gesagt ist, das jodometrische Verfahren von Romijn¹⁾. Es kam $\frac{n}{10}$ Jodlösung²⁾ und $\frac{n}{10}$ Thio-sulfatlösung in Anwendung.

Versuch 1.

2 g Glycerin, 100 ccm Wasser, 2 g KMnO_4 , 50 ccm verdünnte Schwefelsäure (200 g auf 1 l aufgefüllt). Das Glycerin wurde mit dem größten Teil des Wassers in den mit Glasschliff versehenen Destillierkolben gebracht, das KMnO_4 bei den einzelnen Versuchen entweder direkt eingeschüttet oder in dem Rest des Wassers und der verdünnten Schwefelsäure gelöst. Es wurden 100 ccm abdestilliert, 10 ccm des Destillats banden das Jod aus 13,8 ccm der $\frac{n}{10}$ Jodlösung. Erhalten 0,207 g Formaldehyd = 10,35% des Glycerins.

Versuch 2.

Da erfahrungsgemäß Formaldehyd mit Wasserdämpfen schwer übergeht, wurde versucht, ob sich vielleicht durch ein größeres Volumen der Versuchsflüssigkeit eine bessere Ausbeute herbeiführen läßt. Dementsprechend bestand die Mischung aus 2 g Glycerin, 300 ccm Wasser, 2 g KMnO_4 , 50 ccm verdünnter Schwefelsäure. Der äußere Verlauf wich insofern von dem des vorigen Versuches ab, als die völlige Entfärbung nur sehr zögernd eintrat, schließlich aber vollständig wurde. Es wurden 300 ccm abdestilliert. 10 ccm banden im Mittel das Jod von 5,2 ccm $\frac{n}{10}$ Jodlösung. Erhalten 0,234 g Formaldehyd = 11,7% des angewendeten Glycerins.

Versuch 3.

Da eine merkliche Steigerung der Ausbeute an Formaldehyd nicht erzielt war, wurde jetzt die Wirkung eines erneuten Wasserzusatzes versucht; gleichzeitig sollte der Versuch dazu dienen, festzustellen, ob die Ausbeute durch erneuten Zusatz von KMnO_4 erhöht wird.

Wie bisher wurden von dem Gemisch von 2 g Glycerin 100 ccm Wasser, 2 g KMnO_4 und 50 ccm verdünnte Schwefelsäure 100 ccm abdestilliert, nach dem Erkalten wurden 100 ccm Wasser in den Kolben zugegeben und 100 ccm abdestilliert. Dasselbe geschah noch zum drittenmal:

¹⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie Bd. 36 S. 18 (1897).

²⁾ Die Anzahl der gebundenen ccm Jodlösung $\times 1,5$ ergibt die Quantität des Formaldehyds in mg.

10 ccm des ersten Destillates	erforderten	12,2 ccm $n/_{10}$ Jodlösung
10 „ „ zweiten „	„	2,15 „ „ „
10 „ „ dritten „	„	0,45 „ „ „

Im ganzen sind also erfordert 14,8 ccm Jodlösung. Erhalten 0,222 g Formaldehyd = 11,1 % des Glycerins, eine Erhöhung der Formaldehydmenge ist also nicht erzielt. Nunmehr wurden zu dem erkalteten Inhalt des Kolbens nicht nur 100 ccm Wasser, sondern außerdem 2 g $KMnO_4$ gesetzt und 100 ccm abdestilliert, dies noch einmal wiederholt, endlich zum drittenmal 2 g $KMnO_2$ und ein Gemisch von 50 ccm Wasser und 50 ccm verdünnter Schwefelsäure, da sich bei der vorigen Operation etwas MnO_2 , unlöslich ausgeschieden hatte.

10 ccm des ersten Destillates	erforderten	8,45 ccm $n/_{10}$ Jodlösung
10 „ „ zweiten „	„	0,35 „ „ „
10 „ „ dritten Destillates	enthielten keine quantitativ bestimmten Mengen Formaldehyd, obwohl derselbe durch Reaktionen noch nachweisbar war. Im ganzen sind gebunden 23,6 ccm $n/_{10}$ Jodlösung. Dies entspricht 0,354 g Formaldehyd = 17,7 % des Glycerins.	

Versuch 4

bezieht sich auf die Quantität des erforderlichen $KMnO_4$ und ist insofern eine Wiederholung von 3, jedoch mit dem Unterschied, daß der erneute Wasserzusatz am Anfang des Versuches fortgelassen und die Destillation weiter getrieben wurde, und zwar möglichst genau bis 112 ccm. Bei der dritten Destillation wurden zum Kolbeninhalt 65 ccm Wasser und 50 ccm verdünnte Schwefelsäure gesetzt, beim Abschluß des Versuches war noch etwas MnO_2 im Kolben.

10 ccm des ersten Destillates	erforderten	16,0 ccm $n/_{10}$ Jodlösung
10 „ „ zweiten „	„	7,6 „ „ „
10 „ „ dritten „	„	1,1 „ „ „

Im ganzen sind erfordert 24,7 ccm Jodlösung. Das ergibt 0,415 g Formaldehyd = 20,75 % des Glycerins.

Daß die Destillate in der Tat Formaldehyd enthielten, ist durch eine ganze Anzahl von Reaktionen (Fuchsin-schweflige Säure, Reaktion von Schrywer sauer und alkalisch, Rimini, Jorissen-Vanino, Morphinreaktion und Reaktion mit Pepton, Salzsäure und Eisenchlorid), wenn auch nicht in jedem Falle, nachgewiesen worden. Auf die Frage, ob neben dem Formaldehyd noch andere Jod bindende Substanzen in den Destillaten vorhanden waren, gehe ich weiter unten ein. Den genannten Reaktionen habe ich noch einen biologischen Nachweis hinzugefügt.

10 g gehacktes Fleisch wurden in einem Glasstöpselzylinder mit 100 ccm Wasser und 1 ccm gesättigter Lösung von Na_2CO_3 übergossen. Mischung A. Eine zweite Mischung wurde ebenso angesetzt, nur kam statt Wasser ein Destillat zur Anwendung, das vorher genau mit Na_2CO_3 neutralisiert war. Beide Mischungen kamen am 31. 8 in den Thermostaten bei 39°C . Schon am 1. 9. war die Mischung A intensiv faulig, die Mischung B zeigte keinen Geruch. Dieses Sachverhältnis blieb auch so bis zum Ende des Versuches am 29. 9., nachdem beide Mischungen vom zweiten Tage ab bei Zimmertemperatur aufbewahrt waren. Am 3. 9. wurde von beiden Mischungen auf Nährgelatineröhrchen abgeimpft. Schon am folgenden Tage waren in den Gelatineröhrchen, die mit Mischung A beimpft waren, Kolonien zu sehen, die allmählich bedeutend zunahmten und bald zur Verflüssigung der Gelatine führten. In den mit Mischung B geimpften Röhrchen traten keine Kolonien auf, sie blieben auch steril bis zum Abschluß des Versuches am 29. 9.

Was die Menge des erhaltenen Formaldehyds betrifft, so ist sie augenscheinlich abhängig von der Quantität des angewendeten KMnO_4 : gleiche Gewichtsmenge reicht augenscheinlich nicht aus, es ist die doppelte bis dreifache Menge KMnO_4 erforderlich. Auffallenderweise weichen die beiden erhaltenen Maxima ziemlich erheblich voneinander ab: im Versuch 3 betrug das Maximum 17,7 % des Glycerins, im Versuch 4 dagegen 20,75 %, vielleicht abhängig davon, daß im Versuch 4 die Destillation weiter getrieben ist. Rechnet man das Maximum auf wasserfreies Glycerin um (86 %), so ergeben sich 24,07 % des Glycerins.

Vergleichen wir nun damit die Zahlen von Rosenthaler. Er fand:

- | | | | | | | |
|----|-------------------|-----|------------------------|---------|---------|-------------|
| 1. | 1,3069 g Glycerin | und | 1,30 g KMnO_4 | ergaben | 12,14 % | Formaldehyd |
| 2. | 0,9151 g | " | 1,41 g | " | 18,52 % | " |
| 3. | 1,0848 g | " | 2,23 g | " | 9,12 % | " |

Die beiden ersten Zahlen stehen mit meinen Ergebnissen in Einklang, die dritte aber nicht; während bei Rosenthaler die Steigerung des KMnO_4 auf etwas mehr als das Doppelte zu einer erheblichen Verminderung des Formaldehyds führte, trat bei mir umgekehrt eine wesentliche Steigerung ein. Dieser Widerspruch ist aber nur ein scheinbarer, abhängig von der Versuchsanordnung, wie folgende Versuche zeigen.

Versuch 5.

2 g Glycerin, 150 ccm verdünnte Schwefelsäure, 5 g KMnO_4 . Es werden 122 ccm abdestilliert. 10 ccm erfordern 11.3 ccm $\frac{n}{10}$ Jodlösung. Im ganzen also erhalten 0,207 g Formald. hyd = 10,35 % des Glycerins.

Versuch 6.

Mischung ebenso, 112 ccm abdestilliert, 10 ccm erfordern 10,3 ccm $\frac{n}{10}$ Jodlösung. Im ganzen also 0,173 g Formaldehyd = 8,65 % des Glycerins.

Bei Anwendung der $2\frac{1}{2}$ fachen Quantität von KMnO_4 auf einmal hat also die Formaldehydmenge im Gegensatz zu der fraktionierten Anwendung und in Übereinstimmung mit dem Versuch 3 von Rosenthaler nicht zugenommen, sondern abgenommen.

Rosenthaler hat nun seine quantitativen Bestimmungen des Formaldehyds nach dem Cyankaliumverfahren¹⁾ ausgeführt. Die von mir angewendete jodometrische Methode, deren Anwendbarkeit für reine Formaldehydlösungen außer Zweifel steht, hält Rosenthaler im vorliegenden Falle nicht für anwendbar. Rosenthaler sagt darüber: „Insbesondere konnte die jodometrische Methode nicht angewandt werden, weil noch mit der Bildung anderer jodbindender Körper zu rechnen ist“ (und in einer Anmerkung: „wiederholt wurde demgemäß in den Destillaten die Bildung von Jodoform nach dem Zusatz von $\frac{n}{10}$ Jodlösung und Natriumlauge wahrgenommen“). „Lediglich um zu zeigen, daß letzteres der Fall ist, wurden auch Bestimmungen nach der jodometrischen Methode ausgeführt.“

Weiterhin heißt es: „Nach Beendigung der Reaktion (nämlich nach dem Zusatz von Oxalsäure zur Beseitigung der noch überschüssigen vorhandenen Übermangansäure bei Anstellung des Versuches in der Kälte) wurde so lange mit Wasserdampf destilliert, bis die Hehner-Leonardsche Reaktion negativ ausfiel“²⁾, und in der Anmerkung: „bei weiterem Destillieren gingen dann in der Regel weitere jodbindende Substanzen über, die dann aber nicht mehr bestimmt wurden“.

¹⁾ Romijn, Zeitschr. f. analyt. Chemie Bd. 36, S. 18 (1897).

²⁾ Das ist natürlich nicht ganz ohne Verlust möglich, wenn die Prüfung nicht zufällig in einer Zeit erfolgt, in der die Reaktion negativ ausfällt, im andern Falle geht unvermeidlich etwas verloren.

Gegenüber diesen Ausführungen habe ich die Anwendung des jodometrischen Verfahrens bei den Oxydationsversuchen von Glycerin zu rechtfertigen.

Es ist selbstverständlich, daß das jodometrische Verfahren nicht anwendbar ist, wenn nach Zusatz von Jodlösung und Natronlauge beim Stehen Jodoformbildung eintritt. Dies war bei der Oxydation des Glycerins auffallenderweise in zwei Versuchen der Fall, diese sind nicht weiter berücksichtigt worden¹⁾. Eine Unterstützung findet die Anwendung des jodometrischen Verfahrens in den eigenen Angaben von Rosenthaler für Glycerin. Rosenthaler hat neben den durch die Cyankaliummethode erhaltenen Zahlen auch die bei dem jodometrischen Verfahren erforderlichen ccm $n/_{10}$ Jodlösung angegeben. Berechnet man nun aus diesen die Quantität des Formaldehyds, so ergibt sich eine sehr nahe Übereinstimmung der beiden Werte, wie folgende Zusammenstellung zeigt. Es wurde Formaldehyd erhalten in Prozenten des Glycerins

1. nach der Cyankaliummethode	12,14—18,52—9,12
2. aus den gebundenen Jodmengen berechnet	12,29—18,52—9,30

Ein Versuch zeigt also vollständige Übereinstimmung, in den beiden anderen ist die Differenz doch recht unerheblich. Dasselbe ergaben eigene Versuche, in denen beide Verfahren nebeneinander angewendet wurden.

In dem einen Versuch „a“ wurde die Oxydationsmischung nach 10 Minuten durch Oxalsäure entfärbt, dann der Formaldehyd mit Wasserdampf übergetrieben, in dem andern Falle „b“ unterblieb der Zusatz von Oxalsäure, mit Wasserdampf wurde auch in diesem Falle destilliert.

a	lieferte nach der Cyankaliummethode	15,4%
		jodometrisch 15,3%
b	„ „ „ „	19,8%
		jodometrisch 19,6%.

¹⁾ Eine Erklärung für diese auffallende Erscheinung vermag ich nicht zu geben.

Danach kann gegen die Anwendung des jodometrischen Verfahrens wohl kaum ein Einwand erhoben werden, selbstverständlich bezieht sich das nur auf den speziellen Fall, d. h. die Oxydation des Glycerins. Daß das jodometrische Verfahren in vielen, vielleicht den meisten, anderen Fällen nicht anwendbar ist, geht aus der Tabelle von Rosenthaler hervor¹⁾.

In allen Fällen, in denen darauf untersucht ist, enthielten die Destillate auch Ameisensäure, und zwar stieg ihre Quantität dem Augenschein nach mit der Zunahme des KMnO_4 . Es wurden in 3 Versuchen 5 g Glycerin mit 100 ccm Wasser und 50 ccm verdünnter Schwefelsäure unter Zusatz von 0,5 bzw. 2 bzw. 4 g KMnO_4 destilliert. Im ersten Fall war die Reduktion von HgCl_2 , bei direkter Prüfung der Destillate, sehr schwach, im zweiten stärker, im dritten am stärksten. In einigen Fällen ist auch die Ameisensäure quantitativ bestimmt²⁾ und zwar in den oben erwähnten Fällen a und b. In a ergaben sich 6,3% des Glycerins, in b nur 2,2%. Augenscheinlich ist bei der energischeren Oxydation die Ameisensäure z. T. zu H_2O und CO_2 oxydiert, welche letztere wiederholt durch Verbindung des unteren Endes des Kühlrohrs mit einer Glasröhre, die in Kalkwasser tauchte, nachgewiesen ist.

Zu dem Fütterungsversuch diente eine Hündin von 15,7 Kilo Körpergewicht, die mit 300 g Fleisch, 50 g Speck und 30 g Reis annähernd im Stickstoffgleichgewicht oder wenigstens bei ziemlich konstanter N-Ausscheidung war. Nach 4 Vortagen erhielt das Tier an 3 Tagen hintereinander 10 g Glycerin mit der Nahrung, am vierten Tage, da es die Nahrungsaufnahme verweigerte, 20 g mit der Schlundsonde. Leider vertrug der Hund das Glycerin sehr schlecht. Schon am ersten Tage hatte er diarrhoische Entleerungen, die durch Opium nicht beseitigt, durch Verabreichung von Ton nur

¹⁾ Die jodbindende Substanz ist vielleicht Oxymethylfurol, wenigstens konnte ich das Vorhandensein desselben in den Oxydationsdestillaten von Rohrzucker durch Reaktionen wahrscheinlich machen.

²⁾ Die Bestimmung geschah nach dem Verfahren von Franzen und Greve; vgl. die Arbeit von Fr. Simon, *Biochem. Zeitschr.* Bd. 65 S. 93 sowie die Arbeit von Steppuhn und Schellbach. *Diese Zeitschr.* Bd. 80 S. 275.

vortübergehend gebessert werden konnten. Er machte auch einen kranken Eindruck, woran z. T. vielleicht die Anwendung von Opium schuld war. Der Versuch mußte daher am vierten Tage abgeschlossen werden, der Hund erholte sich in einigen Tagen. Formaldehyd war im Harn zu keiner Zeit sicher nachweisbar.

Über die ausgeschiedene Ameisensäure und die N-Ausscheidung gibt nachfolgende Tabelle Auskunft.

Datum	N-Ausscheidung in g	Ameisensäure in mg	Bemerkungen
27./11.	6,489	4,9	
28./11.	7,476	7,2	
29./11.	8,386	7,4	
30./11.	8,358	7,8	
1./12.	8,761	15,0	10 g Glycerin
2./12.	8,722	19,1	.
3./12.	9,776	8,4	.
4./12.	—	8,6	20 g Glycerin
5./12.	9,416	19,8	Nachttag

Die Ameisensäure ist an den Vortagen mit Ausnahme des ersten recht konstant, nicht so an den Versuchstagen. An den 4 Normaltagen sind ausgeschieden 27,3 mg, pro Tag 6,8 mg, also bedeutend mehr als in den Versuchen von Steppuhn und Schellbach, bei denen die Ausscheidung nur 2,7 p. d. betrug. Es kommt dabei einerseits die Größe des Tieres — 15,7 Kilo gegen 6,9 Kilo — in Betracht, vielleicht aber auch der Umstand, daß unser Hund 30 g Reis mit der Nahrung erhielt. Ich muß zugeben, daß die Zugabe von Reis zur Nahrung vielleicht ein Fehler war, geeignet, den Ausfall des Versuches zu beeinträchtigen, der Zusatz von Reis ließ sich aber nicht vermeiden, da der betreffende Hund nach früheren Erfahrungen die Aufnahme einer aus Fleisch und Speck bestehenden versüßten Nahrung verweigerte. In der Ausscheidung von Ameisensäure an den Versuchstagen zeigen sich auffallende Schwankungen, die wohl mit der

schlechten Resorption des Glycerins in Zusammenhang stehen. Im ganzen wurde an den 4 Versuchstagen und einem Nachtrage 70,9 mg, täglich 14,2 mg ausgeschieden, also etwas mehr als das Doppelte der früheren Ausscheidung; absolut genommen beträgt das Plus, wenn man die Ausscheidung der 4 Vortage auf 5 Tage ergänzt, 36,5 mg, also p. d. 7,36 mg. An der Steigerung der Ameisensäureausscheidung ist also wohl kein Zweifel, bezogen auf das verfütterte Glycerin ist sie aber doch recht unbedeutend, nämlich $0,074 \text{ g} = 0,117\%$ des wasserfreien Glycerins; dabei kommt freilich in Betracht, daß sicher nur ein Teil des Glycerins zur Resorption gelangt ist.

Unter diesen Umständen wird man doch an andere Quellen für die Ameisensäure des Harns zu denken haben. In dieser Beziehung kommen die Beobachtungen von v. Hoeßlin und Franchini in Betracht. Nachdem Pohl¹⁾ entdeckt hatte, daß die Verabreichung von Methylalkohol bei Hunden eine ganz beträchtliche Steigerung der Ameisensäureausscheidung bewirkt, fand v. Hoeßlin²⁾, daß eine solche auch stattfindet, wenn man Kaninchen Cholin per os oder subkutan beibringt. Franchini³⁾ hat gelegentlich seiner unter meiner Leitung angestellten Versuche über den Verbleib des per os eingeführten Lecithins auch an 12 Kaninchen die Ameisensäureausscheidung untersucht, und zwar an 9 Tieren 3 Tage lang, an 2 vier Tage, an 1 zwei Tage hindurch, im ganzen also an 37 Tagen. Er fand für die dreitägigen Perioden 0,1173 — 0,1020 — 0,1618 usw., im Mittel $0,1516 = 50,05 \text{ mg p. d.}^4)$. Gegenversuche über die normale Ausscheidung hat Franchini nicht gemacht, da die Ameisensäurebestimmungen, wie gesagt, mehr beiläufig ausgeführt sind und uns die Steigerung gegenüber dem in der Regel auf Spuren angegebenen Ameisensäuregehalt des Harns unzweifelhaft erschien.

¹⁾ Pohl, Archiv für experim. Patholog. u. Pharmak. Bd. 31, S. 281 (1893).

²⁾ v. Hoeßlin, Hofmeisters Beiträge usw. Bd. 8, S. 33 (1906).

³⁾ Franchini, Bioch. Zeitschr. Bd. 6, S. 210 (1907).

⁴⁾ Meine Berechnung ergibt einen etwas abweichenden Wert, nämlich 49,3 mg p. d.

Dem stehen nun allerdings die auffallend hohen Angaben von v. Hoeßlin für die Norm gegenüber. v. Hoeßlin fand für Kaninchen 1,057 Natriumformiat an 3 Tagen, 0,735 an 2 Tagen, freilich auch viel geringere Werte. Mir erschien deshalb die Bildung einer Mittelzahl¹⁾ wünschenswert. Es handelt sich um zwei Kaninchen, von denen das erste ausschließlich mit Grünkohl gefüttert war, das zweite mit Hafer und „wenig Grünzeug“. Im Mittel beträgt die Ausscheidung p. d. bei dem ersten Kaninchen 379 mg Natriumformiat = 252,7 mg Ameisensäure, bei dem zweiten 321 mg Natriumformiat = 214 mg Ameisensäure. Es mag sein, daß die Zahlen sich bei einer etwas anderen Berechnung etwas anders stellen, jedenfalls aber würde nach diesen Zahlen von einer Steigerung der Ameisensäureausscheidung nach Verfütterung von Lecithin nicht die Rede sein können.

Die Zahlen von v. Hoeßlin stehen nun aber in Widerspruch mit den Angaben einer Reihe anderer Autoren. Pohl sagt²⁾ über die Ameisensäureausscheidung des Hundes: „Die Normalwerte des Formiats erreichen selten die Größe eines Zentigramms auf die eintägige Harnmenge“. In den einzelnen Versuchen finden sich allerdings auch höhere Zahlen, z. B. 0,0286 in Versuch VI und einmal in Versuch XVII 0,044 Formiat. v. Hoeßlin sagt dagegen: „Auch Pohl sah bei Hunden Schwankungen bis über 0,1“. Eine solche Zahl habe ich trotz alles Suchens nicht finden können. Für ein Kaninchen gibt Pohl 0,0082 g an. Damit stimmen auch die Angaben von Steppuhn und Schellbach³⁾ überein, die bei einem Kaninchen im Mittel von 8 Tagen eine Ausscheidung von 5 mg fanden. Fr. Simon⁴⁾ fand bei 3 Kaninchen für die dreitägige Harnmenge 0,0179 — 0,0612 — 0,0508 g Ameisensäure bei einer Harnmenge von 2000 — 1620 — 1870 ccm; im Mittel allerdings etwas mehr wie die erwähnten Autoren, nämlich 0,0144 g.

¹⁾ Dabei sind die zweifelhaften Zahlen und die vielleicht noch unter dem Einfluß des Cholins stehenden fortgelassen.

²⁾ l. c. S. 286.

³⁾ Steppuhn und Schellbach l. c. S. 277.

⁴⁾ Fr. Simon l. c. S. 94.

Nach alledem wird man wohl nicht in Abrede stellen können, daß die Zahlen von Franchini die Zunahme der Ameisensäureausscheidung nach Zufuhr von Lecithin beweisen, wobei freilich die hohen Zahlen von v. Hoeßlin für die Normalausscheidung unerklärt bleiben. Es ist nun aber auch kein Grund abzusehen, warum die Ameisensäure gerade aus einer Substanz stammen soll, warum wir nicht verschiedene Quellen annehmen sollen, nämlich das Lecithin, die Kohlehydrate und das Glycerin.

Es ist einleuchtend, daß die Entstehung der Ameisensäure aus Methylalkohol, die ohne Zweifel über Formaldehyd erfolgt, den gleichen Vorgang für die Bildung der Ameisensäure aus Cholin, Lecithin und Glycerin, bei welchen von Milchsäurebildung wohl nicht gesprochen werden kann, höchst wahrscheinlich macht. Damit wächst die Wahrscheinlichkeit, daß auch die nach Einführung von Glukose beobachtete Ameisensäurebildung auf dem Wege über den Formaldehyd erfolgt. Dabei kann dahingestellt bleiben, in welchem Umfange der Zucker im Organismus dieser Oxydation unterliegt. Es ist sehr wohl möglich, daß es sich dabei nur um eine Nebenreaktion handelt, während die Hauptmenge direkt zu CO_2 und H_2O verbrennt, vielleicht auch nach vorgängiger Milchsäurebildung, wofür mancherlei spricht. Bezüglich der Bildung von Formaldehyd aus Lecithin möchte ich nicht unerwähnt lassen, daß nach Versuchen, die ich darüber angestellt habe, sowohl die Glycerinphosphorsäure als auch das Cholin bei der Oxydation mit KMnO_4 in saurer Lösung bei leichtem Erwärmen, wie zu erwarten, reichlich Formaldehyd liefert; auch das Lecithin selbst bei etwas stärkerem Erhitzen.

Herrn Dr. Federer, damaligen Assistenten der Abteilung, der mich bei der Ausführung des Fütterungsversuches in wirksamster Weise unterstützt hat, danke ich für seine Hilfe auch an dieser Stelle.

Zusammenfassung.

1. Das Glycerin liefert bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung im Maximum rund 20—21 %

Formaldehyd, auf wasserfreies Glycerin umgerechnet ca. 24 %. Diese Zahl konnte aber nur bei fraktionierter Oxydation erreicht werden.

2. Verfüttert bewirkt das Glycerin beim Hund eine unzweifelhafte Steigerung der Ameisensäureausscheidung im Harn, die sich jedoch in bescheidenen Grenzen hält.

3. Die Ameisensäurebildung aus Glycerin erfolgt höchstwahrscheinlich über den Formaldehyd.

4. Glycerinphosphorsäure, Cholin und Lecithin liefern bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung Formaldehyd.

5. Es liegt kein Grund vor, nur eine Quelle für die Ameisensäureausscheidung anzunehmen, vermutlich tragen dazu die Kohlehydrate, das Glycerin und namentlich das Lecithin bei, vielleicht auch Gärungsvorgänge der Kohlehydrate.

Nachschrift bei der Korrektur.

Auch Wasserstoffsperoxyd (3%ig) oxydiert Lecithin, Cholin und Glycerinphosphorsäure beim Erwärmen unter Bildung von Formaldehyd. Zur Feststellung desselben ist natürlich vor Anstellung der Reaktionen die vollständige Entfernung des überschüssigen H_2O_2 , am besten durch Platinmohr erforderlich, da durch Reste desselben eine positive Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure vorgetäuscht, andererseits die Reaktion mit Pepton, Eisenchlorid und Salzsäure trotz Anwesenheit von Formaldehyd verhindert werden könnte Zweckmäßig ist es auch, die Reaktionsmischung nach der Behandlung mit Platinmohr zur Isolierung des Formaldehyds zu destillieren.