

## 140. Zur Bestimmung von Vitamin B<sub>1</sub> im menschlichen Harn

von Walter Karrer.

(30. VIII. 37.)

Nachdem das Vitamin B<sub>1</sub> (Aneurin) durch Synthese leichter zugänglich geworden ist, können nun auch physiologische Untersuchungen mit diesem Vitamin auf breiterer Grundlage einsetzen. Für quantitative Versuche fehlte bisher eine einfache, zuverlässige Bestimmungsmethode. In Gemeinschaft mit *U. Kubli*<sup>1)</sup> habe ich kürzlich über eine wesentlich vereinfachte Modifikation der B<sub>1</sub>-Bestimmungsmethode von *Jansen*<sup>2)</sup> berichtet. Am Schluss der Arbeit wurde mitgeteilt, dass die neue Methode auf ihre Brauchbarkeit zur Bestimmung von Vitamin B<sub>1</sub> bei biologischen Untersuchungen geprüft wird. Inzwischen wurden nun solche Versuche ausgeführt und zwar vorerst beim Harn. Hier liegen die Verhältnisse insofern ungünstig, als dieser im U.V.-Licht fluoreszierende Substanzen enthält, die bei der B<sub>1</sub>- bzw. Thiochrombestimmung störend wirken.

Die ersten diesbezüglichen Versuche habe ich am Harn B<sub>1</sub>-belasteter Hunde ausgeführt. Dabei wurden unter gewissen Bedingungen Resultate erhalten, die gut mit denen der Parallelversuche nach der Bradycardie-Methode an der Ratte (elektrocardiographische Methode) übereinstimmten. Anschliessend bin ich dann zur B<sub>1</sub>-Bestimmung im menschlichen Harn übergegangen. Bevor ich auf diese Versuche näher eingehe, möchte ich kurz diejenigen bisher erschienenen Arbeiten resumieren, die sich mit den Ausscheidungsverhältnissen von Vitamin B<sub>1</sub> im menschlichen Harn befassen:

*N. van der Walle*, *Biochem. J.* **16**, 713 (1922). Mittels Taubentest wird festgestellt, dass der menschliche Harn kleine Mengen B<sub>1</sub> enthält.

*O. M. Helmer*, Ref: *Ber. ges. Physiol.* **88**, 598 (1935). Durch den Rattenwachstumstest lässt sich im normalen menschlichen Harn sicher ein Gehalt an B<sub>1</sub> nachweisen.

*L. J. Harris* und *P. C. Leong*, *Lancet* **1936**, 886. Der Harn wird mit Fullererde behandelt, und das Adsorbat nach der elektrocardiographischen Methode geprüft. Dabei wird festgestellt, dass bei normal ernährten Erwachsenen täglich 30—90  $\gamma$  Vitamin B<sub>1</sub> im Harn zur Ausscheidung gelangen. Werden diese Personen an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen täglich mit B<sub>1</sub> belastet, so vermehrt sich die tägliche Ausscheidung und beträgt 5—8% der zugeführten B<sub>1</sub>-Menge. Wird die Versuchsperson einige Tage auf B<sub>1</sub>-freier Diät gehalten, so nimmt die B<sub>1</sub>-Ausscheidung rasch ab. Führt man dann wieder grössere Mengen B<sub>1</sub> zu, so setzt die Ausscheidung nur verzögert, d. h. erst am 2. Tage ein. Das deutet darauf hin, dass bei B<sub>1</sub>-freier Diät die B<sub>1</sub>-Reserven des Körpers schnell auf-

<sup>1)</sup> *W. Karrer* und *U. Kubli*, *Helv.* **20**, 369 (1937).

<sup>2)</sup> *B. C. P. Jansen*, *R.* **55**, 1046 (1936).

gebraucht werden. Wird auf eine Belastung mit 900  $\gamma$  B<sub>1</sub> deutlich mehr B<sub>1</sub> im Harn ausgeschieden als vor der Belastung, so ist das ein Zeichen dafür, dass kein B<sub>1</sub>-Mangel vorlag; tritt aber eine wesentlich vermehrte Ausscheidung nicht ein, so wird angenommen, dass das zugeführte B<sub>1</sub> zur Auffüllung der Reserven diene. Nach *Harris* und *Leong* ist ein Vitamin B<sub>1</sub>-Mangel dann zu vermuten, wenn im Harn täglich weniger als ca. 30  $\gamma$  B<sub>1</sub> ausgeschieden werden.

*M. H. Roscoe*, *Biochem. J.* **30**, 1053 (1936). Der konz. Harn wird an neuritischen Ratten geprüft. Unter normalen Bedingungen wird im menschlichen Harn kein B<sub>1</sub> gefunden; möglicherweise sind kleine Mengen darin enthalten. Bei Zulagen von 720 Einheiten B<sub>1</sub> täglich werden 167—333 Einheiten (= 23—46%) im Harn wiedergefunden.

*O. M. Helmer*, *J. Biol. Chem.* **114**, XLVIII (1936). Mit der Rattenwachstumsmethode wird festgestellt, dass im menschlichen Harn beträchtliche Mengen B<sub>1</sub> ausgeschieden werden.

*H. G. K. Westenbrink* und *J. Goudsmit*, *Ned. Tijdschr. voor Geneesk.* **81**, 2632 (1937); *R.* **56**, 803 (1837). Bestimmung nach der *Jansen'schen* Thiochrommethode. Aus dem verdünnten Harn werden Fullererde-adsorbate hergestellt und diese mit und ohne Oxydationsmittel eluiert. Die Differenz der beiden auftretenden Fluoreszenzen gibt den Thiochromwert. Normal ernährte Personen schieden pro Tag 70—150  $\gamma$  Vitamin B<sub>1</sub> aus. Nach täglicher Belastung mit  $3 \times 1000 \gamma$  B<sub>1</sub> wurden im 24-stündigen Harn 460—550  $\gamma$  B<sub>1</sub> ausgeschieden.

Von dieser letzten Arbeit erhielt ich erst im Laufe der eigenen Untersuchung Kenntnis.

Um die Ausscheidungsverhältnisse bei grosser B<sub>1</sub>-Zufuhr kennen zu lernen, habe ich mich selbst an 3 aufeinanderfolgenden Tagen mit je 20 mg, dann noch 3mal mit je 40 mg krystallisiertem Aneurin oral belastet.

Zur Abtrennung des Vitamin B<sub>1</sub> aus dem Harn wurden — analog dem Vorgehen von *Harris* und *Leong* — je 100 cm<sup>3</sup> Harn mit 1 g Frankonit ausgerührt bzw. geschüttelt; das Filtrat wurde in manchen Fällen noch einmal mit 1 g Frankonit behandelt. Es ist jedoch zweckmässiger, von Anfang an für 100 cm<sup>3</sup> Harn 2 g Frankonit zu verwenden. Von den Adsorbaten wurden dann 10 oder 50 mg unter gleichzeitiger Oxydation eluiert. Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich ist, war die Menge des Oxydationsmittels von ausschlaggebender Bedeutung<sup>1)</sup>. Es ist dabei zu berücksichtigen, dass die untersuchten Harne infolge warmen Wetters ziemlich konzentriert waren. Bei verdünnterem Harn werden vielleicht auch etwas geringere Kaliumferricyanidmengen genügen.

Im einzelnen gestaltet sich die Bestimmung folgendermassen:

100 cm<sup>3</sup> Harn werden mit 1 cm<sup>3</sup> Eisessig angesäuert (p<sub>H</sub> etwa 4.0) und hierauf mit 2 g Frankonit (Spezial-Fullererde der *Pfirschingen Mineralwerke*, Kitzingen a. M.) 1 Stunde ausgerührt oder geschüttelt. Dann nutsch man ab, wäscht mit 5 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser nach und trocknet das Fullererde-adsorbat im Vakuumexsikkator (eventl. auch

---

<sup>1)</sup> Hier möchte ich eine Berichtigung anfügen. In der früheren Arbeit, *Helv.* **20**, 369 (1937), sollte es in der 2. Tabelle auf S. 372 heissen: Kaliumferricyanid-Lösung 0,1% (statt 1%). Damit fällt dann auch die Differenz mit den Angaben von *Jansen*, der 1-proz. Lösung verwendete, dahin.

an der Luft). Man ermittelt das genaue Gewicht des Adsorbates und hebt dieses in einem Fläschchen auf.

Als Vergleichssubstanz dient reines Vitamin B<sub>1</sub>-hydrochlorid oder dessen wässrige Lösung z. B. in Form von Benerva „Roche“. Man verdünnt 0,6 cm<sup>3</sup> Benerva mit destilliertem Wasser auf 100 cm<sup>3</sup>, so dass 1 cm<sup>3</sup> dieser verdünnten Lösung 12  $\gamma$  Aneurin enthält<sup>1)</sup>. 0,2 cm<sup>3</sup> dieser Lösung (= 2,4  $\gamma$  Aneurin) werden genau wie Helv. 20, 370 (1937) angegeben oxydiert und zur Darstellung der Typlösung verwendet.

Von dem auf seinen B<sub>1</sub>-Gehalt zu prüfenden Fullererde-adsorbat wägt man dann 3  $\times$  50 mg (bei Harnen B<sub>1</sub>-belasteter Personen 3  $\times$  10 mg) in 3 graduierte Messzylinder à 25 cm<sup>3</sup> und fügt 1,0 bzw. 1,5 bzw. 0 cm<sup>3</sup> 1-proz. Kaliumferricyanidlösung hinzu (bei Verwendung von 10 mg Adsorbat entsprechend weniger). Nach Zugabe von je 3 cm<sup>3</sup> 15-proz. Natronlauge (bei dem Versuch ohne Kaliumferricyanid, den wir Blindversuch nennen wollen, 3 cm<sup>3</sup> 10-proz. Natronlauge) schüttelt man gelinde, aber andauernd 2 Minuten, gibt dann sofort je 12 cm<sup>3</sup> Isobutanol zu und schüttelt kräftig etwa 2 Minuten bei geschlossenem Messzylinder. Man lässt bei Zimmertemperatur stehen, bis klare Schichtentrennung erfolgt ist (in ca. 2 Stunden), pipettiert dann je etwa 10 cm<sup>3</sup> der Isobutanolschicht heraus, filtriert und misst je 4 cm<sup>3</sup> in ein Reagensglas.

Man hat nun also 4 Isobutanollösungen: 1. die Vergleichs- oder Typlösung, 2. und 3. die auf B<sub>1</sub> zu prüfenden Lösungen und 4. die Lösung des sogenannten Blindversuches. Von den Lösungen 2 und 3 verwendet man zur weiteren Bestimmung nur diejenige, die unter der U. V.-Lampe eine stärkere Thiochromfluoreszenz zeigt. Nun vergleicht man diese Fluoreszenz mit derjenigen der Typlösung, indem man die zwei Reagensgläser schief nebeneinander stellt und die Lösungen bei auffallendem U. V.-Licht von oben beobachtet.

Ist die Typlösung schwächer, was bei Harnen, die besonders reich an B<sub>1</sub> sind, möglich ist, dann verdünnt man die zu prüfende Lösung mit Isobutanol, das man aus einer Bürette zufließen lässt, bis Fluoreszenzidentität (bei gleicher Schichthöhe) erreicht ist. Ist umgekehrt die Typlösung stärker, was bei normalen Harnen stets der Fall ist, so wird die Typlösung (eventuell nur 1 cm<sup>3</sup> davon) verdünnt, und zwar — zwecks Korrektur der Eigenfluoreszenz des Harns — zum Teil mit der hell fluoreszierenden Isobutanollösung vom Blindversuch, zum Teil mit reinem Isobutanol. Bei einiger Übung wird man leicht herausfinden, in welchem Verhältnis die beiden Verdünnungsflüssigkeiten zugesetzt werden müssen.

Ist Fluoreszenzgleichheit erreicht, so erfolgt die Berechnung, die recht einfach ist, da 1 cm<sup>3</sup> der unverdünnten Typlösung 0,2  $\gamma$  Aneurin entspricht.

Es wurde hier absichtlich und im Gegensatz zur früheren Mitteilung die B<sub>1</sub>-Menge in  $\gamma$  ausgedrückt und nicht in I. E., da gerade in letzter Zeit für das kristallisierte Vitamin B<sub>1</sub> der Gehalt an I. E. recht verschieden angegeben wird. Bei thiochromarmen, aber trotzdem stark fluoreszierenden Isobutanolauszügen wird der Vergleich mit der Typlösung nur dann mit einiger Sicherheit möglich, wenn letztere statt mit reinem Butylalkohol wenigstens zum Teil mit solchem Butylalkohol verdünnt wird, der zum Ausschütteln des Eluates von nicht oxydiertem Harnadsorbat verwendet worden ist. Bei sehr wenig Vitamin B<sub>1</sub> enthaltenden Adsorbaten setzt man also direkt von Anfang an einen sogenannten blinden Elutionsversuch ohne Oxydationsmittel an und benutzt dann zum Teil die butylalkoholische Lösung dieses Versuches zum Verdünnen der Typlösungen (wie oben angegeben).

Die Resultate meiner Untersuchung sind aus den Tabellen ersichtlich. Einige der Fullererde-adsorbate wurden nachträglich auch noch nach der elektrokardiographischen Methode ausgewertet (siehe Tabelle 1 und 2). Bis auf einen Wert (XIa) stimmten die Resultate sehr gut mit den fluorometrisch ermittelten überein.

<sup>1)</sup> 1 cm<sup>3</sup> Benerva „Roche“ enthält 2 mg kristallisiertes Vitamin B<sub>1</sub>-hydrochlorid.

Tabelle 1.

Versuche bei oraler Vitamin B<sub>1</sub>-Belastung.

| 1. Harn, 8 Stunden nach Belastung |                         |   |                              |                         |   |                              |
|-----------------------------------|-------------------------|---|------------------------------|-------------------------|---|------------------------------|
|                                   | 1. Adsorbat             |   |                              | 2. Adsorbat             |   |                              |
|                                   | mg Adsorbat             | cm <sup>3</sup> 1-proz. K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] | γ B <sub>1</sub> /g Adsorbat | mg Adsorbat             | cm <sup>3</sup> 1-proz. K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] | γ B <sub>1</sub> /g Adsorbat |
| 6. 6. 1937<br>20 mg<br>Aneurin    | I                       |   |                              | Ia                      |   |                              |
|                                   | 10                      | 0,1   | 125                          | 50                      | 1,0   | 60                           |
|                                   | 10                      | 0,2   | 250                          | 50                      | 1,0   | 60                           |
|                                   | 10                      | 0,3   | 280                          |                         |   |                              |
|                                   | 10                      | 0,4   | 250                          |                         |   |                              |
| 7. 6. 1937<br>20 mg<br>Aneurin    | III                     |   |                              | IIIa                    |   |                              |
|                                   | 10                      | 0,1   | 170                          | 50                      | 0,1   | —                            |
|                                   | 10                      | 0,2   | 250                          | 50                      | 1,0   | 22                           |
|                                   | 10                      | 0,3   | 280                          | 50                      | 1,0   | 27                           |
|                                   | 10                      | 0,4   | 280                          |                         |   |                              |
| 8. 6. 1937<br>20 mg<br>Aneurin    | V                       |   |                              | Va                      |   |                              |
|                                   | 10                      | 0,2   | 250                          | 50                      | 0,1   | —                            |
|                                   | 10                      | 0,3   | 300                          | 50                      | 0,2   | 20                           |
|                                   | 10                      | 0,4   | 300                          | 50                      | 0,4   | 20                           |
|                                   | nach electrocard. Meth. |   | 312                          | 50                      | 1,0   | 25                           |
|                                   |                         |   |                              | nach electrocard. Meth. |   | 50                           |
| 5 Tage Pause                      |                         |   |                              |                         |   |                              |
| 13. 6. 1937<br>40 mg<br>Aneurin   | VII                     |   |                              | VIIa                    |   |                              |
|                                   | 10                      | 0,2   | 210                          | 50                      | 0,2   | —                            |
|                                   | 10                      | 0,3   | 220                          | 50                      | 0,4   | Spur                         |
|                                   | 10                      | 0,4   | 200                          | 50                      | 1,0   | 11                           |
|                                   | 10                      | 1,0   | 180                          | 50                      | 1,5   | 10                           |
|                                   |                         |   |                              | nach electrocard. Meth. |   | 12                           |
| 14. 6. 1937<br>40 mg<br>Aneurin   | IX                      |   |                              | IXa                     |   |                              |
|                                   | 10                      | 0,3   | 325                          | 50                      | 0,3   | 27                           |
|                                   | 10                      | 0,4   | 325                          | 50                      | 0,5   | 30                           |
|                                   | 10                      | 0,5   | 312                          | 50                      | 1,0   | 60                           |
|                                   | 10                      | 1,0   | 205                          | 50                      | 1,5   | 60                           |
| 15. 6. 1937<br>40 mg<br>Aneurin   | XI                      |   |                              | XIa                     |   |                              |
|                                   | 10                      | 0,3   | 375                          | 50                      | 0,3   | 50                           |
|                                   | 10                      | 0,4   | 375                          | 50                      | 0,5   | 70                           |
|                                   | 10                      | 1,0   | 275                          | 50                      | 1,0   | 75                           |
|                                   |                         |   |                              | 50                      | 1,5   | 70                           |
|                                   |                         |   |                              | nach electrocard. Meth. |   | 50                           |
| 7 Tage Pause                      |                         |   |                              |                         |   |                              |

**Tabelle 1 (Fortsetzung).**  
 Versuche bei oraler Vitamin B<sub>1</sub>-Belastung.

|                                 | 2. Harn nach weit. 9 Std.  |   |                              | 3. Harn nach weit. 15 Std.                                  |   |                              |
|---------------------------------|--|---|------------------------------|---|---|------------------------------|
|                                 | mg Adsorbat  | cm <sup>3</sup> 1-proz. K <sub>3</sub> [Fe(CH) <sub>6</sub> ] | γ B <sub>1</sub> /g Adsorbat | mg Adsorbat   | cm <sup>3</sup> 1-proz. K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] | γ B <sub>1</sub> /g Adsorbat |
| 6. 6. 1937<br>20 mg<br>Aneurin  | II<br>50   | 1,5   | 35                           |   |   |                              |
| 7. 6. 1937<br>20 mg<br>Aneurin  | IV<br>50<br>50   | 0,4<br>1,5  | —<br>32                      |   |   |                              |
| 8. 6. 1937<br>20 mg<br>Aneurin  | VI<br>50<br>50<br>nach elektrocard. Meth. 32                     | 0,4<br>1,5  | —<br>35                      |   |   |                              |
| 5 Tage Pause                    |  |   |                              |   |   |                              |
| 13. 6. 1937<br>40 mg<br>Aneurin | VIII<br>50<br>50<br>50<br>50<br>50<br>nach elektrocard. Meth. 25 | 0,3<br>0,6<br>1,0<br>1,5<br>2,0                               | —<br>15<br>27<br>32<br>30    |   |   |                              |
| 14. 6. 1937<br>40 mg<br>Aneurin | X<br>50<br>50<br>50<br>50<br>50<br>nach elektrocard. Meth. 40    | 0,3<br>0,6<br>1,0<br>1,5<br>2,0                               | —<br>22<br>30<br>42<br>40    |   |   |                              |
| 15. 6. 1937<br>40 mg<br>Aneurin | XII<br>50<br>50<br>50<br>50<br>50<br>nach elektrocard. Meth. 47  | 0,2<br>0,5<br>1,0<br>1,5<br>2,0                               | —<br>15<br>35<br>50<br>40    | XIII u. XIV<br>50<br>50<br>50<br>nach elektrocard. Meth. 24 | 1,0<br>1,5<br>2,0   | 21<br>27<br>22               |
| 7 Tage Pause                    |  |   |                              |   |   |                              |

**Tabelle 2.**  
Versuche ohne Belastung.

|   | 1. Adsorbat             |   |                              | 2. Adsorbat |   |                              |
|---|-------------------------|---|------------------------------|-------------|---|------------------------------|
|   | mg Adsorbat             | cm <sup>3</sup> 1-proz. K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] | γ B <sub>1</sub> /g Adsorbat | mg Adsorbat | cm <sup>3</sup> 1-proz. K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] | γ B <sub>1</sub> /g Adsorbat |
| 22. 6. 1937                               | XV                      |   |                              | XVa         |   |                              |
|   | 50                      | 1,0   | 7,5                          | 50          | 0,2   | —                            |
| 23. 6. 1937                               | 50                      | 1,5   | 7,5                          | 50          | 1,0   | 3,0                          |
|   | XVI                     |   |                              | XVIa        |   |                              |
|   | 50                      | 1,5   | 8,2                          | 50          | 1,0   | 4,5                          |
|   | 50                      | 1,5   | 8,0                          | 50          | 1,0   | 5,5                          |
|   | nach electrocard. Meth. |   |                              |             |   | 8,7                          |
| 24. 6. 1937                               | XVII                    |   |                              | XVIIa       |   |                              |
|   | 50                      | 1,5   | 10                           | 50          | 1,0   | 2,5                          |
| 24./25. 6.<br>(Gesamtharn von<br>24 Std.) | XVIII                   |   |                              | XVIIIa      |   |                              |
|   | 50                      | 1,5   | 6                            | 50          | 1,0   | 3,4                          |
|   | 50                      | 1,5   | 6,2                          | 50          | 1,0   | 3,7                          |
|   | nach electrocard. Meth. |   |                              |             |   | 6,2                          |

Bei normaler Ernährung fand ich an 4 verschiedenen Tagen pro 100 cm<sup>3</sup> Harn 10,7—14 γ Vitamin B<sub>1</sub> (siehe Tabelle 3 XV bis XVIIIa). Die Menge des Harns war an diesen Tagen ziemlich genau gleich (ca. 800 cm<sup>3</sup>). In einem während 24 Stunden ausgeschiedenen Gesamtharn (XVIII und XVIIIa) wurden 97 γ B<sub>1</sub> festgestellt. *Harris* und *Leong* geben 30—90 γ, *Westenbrink* und *Goudsmit* 70—150 γ an.

Bei 3maliger oraler Belastung mit je 20 mg Aneurin an 3 aufeinanderfolgenden Tagen stieg die B<sub>1</sub>-Ausscheidung wie folgt an:

|    | im Harn der ersten 8 Stunden | im Harn der folgenden 9 Stunden | total innert 17 Stunden |
|----|------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| 1. | 684 γ B <sub>1</sub>         | 95 γ                            | 779 γ = 3,9%            |
| 2. | 880                          | 90                              | 970 = 4,8%              |
| 3. | 943                          | 117                             | 1060 = 5,3%             |

Nach 5-tägiger Pause nahm ich an weiteren 3 aufeinanderfolgenden Tagen nochmals je 40 mg Aneurin ein. Die Ausscheidung im Harn zeigte nun folgendes Bild:

|    | im Harn der ersten 8 Stunden | im Harn der folgenden 9 Stunden | total innert 17 Stunden |
|----|------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| 1. | 850 γ B <sub>1</sub>         | 90 γ                            | 940 γ = 2,4%            |
| 2. | 1092                         | 140                             | 1232 = 3,1%             |
| 3. | 1340                         | 155                             | 1495 = 3,7%             |

Tabelle 3.

Zusammenfassung der Tabellen 1 und 2 und Umrechnung der gefundenen B<sub>1</sub>-Werte in I. Einh. unter Annahme 1  $\gamma$  Aneurin = 0,4 I. E. Es ist zu berücksichtigen, dass 1 g Adsorbat meistens nicht genau 100 cm<sup>3</sup> Harn entspricht, sondern von diesem Wert etwas nach oben oder unten abweicht.

|            | Harnmenge<br>in cm <sup>3</sup> | B <sub>1</sub> gef. in 100<br>cm <sup>3</sup> Harn |       |
|------------|---------------------------------|--|-------|
|            |                                 | $\gamma$   | I. E. |
| I          | 184                             | 305  | 122   |
| Ia         | —                               | 67   | 27    |
| II         | 239                             | 40   | 16    |
| III        | 291                             | 275  | 110   |
| IIIa       | —                               | 27   | 11    |
| IV         | 277                             | 32   | 13    |
| V          | 256                             | 315  | 126   |
| Va         | —                               | 52   | 21    |
| VI         | 292                             | 40   | 16    |
| VII        | 376                             | 215  | 86    |
| VIIa       | —                               | 11   | 4,5   |
| VIII       | 228                             | 40   | 16    |
| IX         | 268                             | 350  | 140   |
| IXa        | —                               | 57   | 23    |
| X          | 296                             | 47   | 19    |
| XI         | 281                             | 402  | 161   |
| XIa        | —                               | 75   | 30    |
| XII        | 270                             | 57   | 23    |
| XIII + XIV | 600                             | 30   | 12    |
| XV         | 270                             | 7,7  | 3,1   |
| XVa        | —                               | 3  | 1,2   |
| XVI        | 250                             | 8  | 3,2   |
| XVIa       | —                               | 5  | 2     |
| XVII       | 310                             | 11   | 4,3   |
| XVIIa      | —                               | 3  | 1,2   |
| XVIII      | 780                             | 8  | 3,3   |
| XVIIIa     | —                               | 4,5  | 1,8   |

Nach der letzten Belastung wurde die Ausscheidung weitere 15 Stunden (17.—32. Stunde nach Belastung) verfolgt. Während dieser Zeit wurden im Harn noch etwa 200  $\gamma$  B<sub>1</sub> ausgeschieden. Dieser Wert, der über dem normalen Ausscheidungswert liegt, zeigt, dass eine, allerdings geringe, Retention von Vitamin B<sub>1</sub> im Körper stattfindet. Dasselbe ersieht man übrigens auch aus der steigenden Ausscheidung bei mehrmaliger Belastung. Als 5 Tage nach dem zweiten Belastungsversuch mit 3  $\times$  40 mg Aneurin die B<sub>1</sub>-Ausscheidung im Harn wieder untersucht wurde, war diese normal, d. h. ca. 100  $\gamma$  pro Tag. Im übrigen zeigen diese Versuche, dass nur ein sehr geringer Teil des oral zugeführten B<sub>1</sub> im Harn unverseht zur Ausscheidung gelangt, und zwar ist die Ausscheidung prozentual umso geringer, je höher die Belastung ist.

Was mit der Hauptmenge des dem menschlichen Organismus zugeführten B<sub>1</sub> geschieht, ist noch nicht sicher bekannt. Nach *Harris* und *Leong*<sup>1)</sup> dürfte das meiste B<sub>1</sub> in den Geweben zerstört werden. *Leong*<sup>2)</sup> fand dagegen bei Ausscheidungsversuchen an der Ratte, dass bei Vitamin B<sub>1</sub>-Gaben unter 200 Einh. täglich die Ausscheidung zur Hauptsache im Harn erfolgte (bis 45%); bei höheren B<sub>1</sub>-Gaben stieg dagegen die Ausscheidung in den Faeces sehr stark an und erreichte Werte bis 80%. Nach unseren am Hund ausgeführten Versuchen wurden bei oraler Gabe von 2,25 mg Aneurin/kg 7—8% der zugeführten Vitamin B<sub>1</sub>-Menge im Harn ausgeschieden, bei subkutaner Injektion von 1 mg Aneurin/kg dagegen etwa 40%.

Um zu prüfen, ob das eingenommene Vitamin B<sub>1</sub> von den Verdauungsfermenten zerstört wird, habe ich B<sub>1</sub> einer 3-stündigen Einwirkung von Pepsin und Pankreatin bei  $p_H$  2,2 bzw. 8,0 unterworfen (bei 40—45°). Im ersten Falle blieb das B<sub>1</sub> vollständig intakt, während im zweiten Falle eine geringe Abnahme (5—10%) des B<sub>1</sub>-Gehaltes festzustellen war, die aber — wie ein Parallelversuch bewies — nicht der Pankreatinwirkung zuzuschreiben ist, sondern der alkalischen Reaktion der Versuchslösung.

#### Anhang.

Die hier für den Harn beschriebene Vitamin B<sub>1</sub>- bzw. Thiochrombestimmungsmethode wurde in letzter Zeit auch bei der Untersuchung von Liquor cerebrospinalis und Blut angewandt.

**Liquor cerebrospinalis.** Unter normalen Bedingungen wurde im menschlichen Liquor kein Vitamin B<sub>1</sub> gefunden. Wurde dann einem solchen Liquor eine Spur Aneurin zugesetzt, so konnte dieses quantitativ nachgewiesen werden, ein Zeichen dafür, dass die Bestimmungsmethode für den Nachweis von B<sub>1</sub> im Liquor wohl geeignet wäre. Auch nach subkutaner Belastung eines Hundes mit 3 mg B<sub>1</sub>/kg wurde nach 1 ½—6 ½ Stunden im Liquor kein B<sub>1</sub> gefunden.

**Blut.** Bei Versuchen am Kaninchen konnte nach subkutaner Injektion von 4 mg Vitamin B<sub>1</sub>/kg die Anwesenheit von Vitamin B<sub>1</sub> im Blutplasma leicht festgestellt werden. Der Nachweis gelang durch direkte Oxydation von 0,5 cm<sup>3</sup> Plasma mit 0,1 cm<sup>3</sup> 1-proz. Kaliumferricyanidlösung oder über das Fullererde-adsorbat (z. B. 1 g Frankonit auf 20 cm<sup>3</sup> Plasma, das mit Wasser verdünnt und schwach angesäuert wurde; zur Oxydation gelangten dann 50 mg Adsorbat). Die Versuche am Blut werden weitergeführt.

Fassen wir die Resultate der vorliegenden Untersuchung zusammen, so ergibt sich:

1. Zur Bestimmung des Vitamin B<sub>1</sub> im Harn wird das Vitamin B<sub>1</sub> an Frankonit adsorbiert und das Adsorbat dem fluorometrischen Thiochromtest nach *W. Karrer* und *U. Kubli* unterworfen. Unter genügender Berücksichtigung der Eigenfluorescenz des Harns können noch Mengen von 3—5  $\gamma$  B<sub>1</sub> pro 100 cm<sup>3</sup> Harn mit genügender Sicherheit quantitativ erfasst werden.

<sup>1)</sup> *L. J. Harris* und *P. C. Leong*, *Lancet* 1936, 886.

<sup>2)</sup> *P. C. Leong*, *Biochem. J.* 31, 373 (1937).

2. In einem bestimmten Falle wurden bei normaler Ernährung 97  $\gamma$  Vitamin B<sub>1</sub> im 24-stündigen Harn ausgeschieden.
3. Bei oraler Belastung mit grossen Mengen Vitamin B<sub>1</sub> (3  $\times$  20 und 3  $\times$  40 mg) wurden nur etwa 3—5% im Harn ausgeschieden; je grösser die Belastung, desto geringer war die prozentuale Ausscheidung.
4. Eine leichte vorübergehende Retention von Vitamin B<sub>1</sub> im Körper wurde festgestellt.
5. Verdauungsfermente zerstören Vitamin B<sub>1</sub> nicht.

Basel, Wissenschaftliche Laboratorien der  
*F. Hoffmann-La Roche & Co.*, Aktiengesellschaft.

#### 141. Polyterpene und Polyterpenoide CXV<sup>1</sup>).

### Synthese des 1,8-Dimethyl-picens und des 1,8-Dimethyl-2-methoxy-picens und ihre Identifizierung mit Dehydrierungsprodukten pentacyclischer Triterpene

von L. Ruzicka und K. Hofmann.

(31. VIII. 37.)

Von dem bei der Dehydrierung pentacyclischer Triterpene<sup>2</sup>) mit Selen oder Palladium entstehenden homologen Picen vom Smp. 305—306° sind in unserem Laboratorium verschiedene Präparate wiederholt analysiert worden. Der Mittelwert von bei 8 verschiedenen Präparaten ausgeführten 16 Analysen sowie die für die Formeln C<sub>25</sub>H<sub>20</sub> (Trimethyl-picen) und C<sub>24</sub>H<sub>18</sub> (Dimethyl-picen) berechneten Werte sind unten in einer kleinen Tabelle zusammengestellt. Die von uns zum reinen<sup>3</sup>) homologen Picen vom Smp. 305—306° dehydrierten Triterpene waren: Hederagenin, Oleanol-säure, Siaresinolsäure, Sumaresinolsäure und Gypsogenin. Wir geben weiter den Mittelwert von 3 Analysen des bei der Dehydrierung von Chinovasäure<sup>4</sup>) entstandenen Präparats an und schliesslich den Mittelwert von 4 Analysen der beiden aus Ursolsäure<sup>5</sup>) und Friedelinol<sup>6</sup>) erhaltenen Präparate.

<sup>1</sup>) Die in *Helv.* **20**, 791 (1937) erschienene Mitteilung wurde aus Versehen mit „CXII“ statt „CXIII“ numeriert; daher muss die von S. 804 als „CXIV“ (statt „CXIII“) bezeichnet werden.

<sup>2</sup>) *Helv.* **15**, 445, 1496 (1933); **17**, 450 (1935).

<sup>3</sup>) Ausgehend von Amyrin war die Reindarstellung noch nicht gelungen; vgl. *Helv.* **20**, 798 (1937) sowie eine spätere Mitteilung.

<sup>4</sup>) *H. Wieland, A. Hartmann und H. Dietrich, A.* **522**, 191 (1936).

<sup>5</sup>) *N. L. Drake und H. M. Duvall, Am. Soc.* **58**, 1687 (1936).

<sup>6</sup>) *N. L. Drake und W. T. Haskins, Am. Soc.* **58**, 1684 (1936).