

Zur Kenntniss der Extractivstoffe der Muskeln.

Von Dr. B. Demant aus St. Petersburg.

(Aus dem physiolog.-chemischen Institut zu Strassburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 20. August.)

Die Rolle der sogenannten Extractivstoffe in den Muskeln ist noch bis jetzt nicht aufgeklärt. Der grösste Theil der Physiologen betrachtet sie als Zersetzungsproducte der Eiweissstoffe aus dem Grunde, weil sie N-haltig sind und mehrere von ihnen neben Harnstoff und Harnsäure im Harn auftreten. Die wenigen in der Literatur vorliegenden Untersuchungen über die Schwankungen der Extractivstoffmengen bei den verschiedenen Zuständen der Muskeln sind so widersprechend, die Methoden der Bestimmung oft so unzuverlässig, dass man kaum über die Bedeutung dieser Stoffe irgend welche Aufklärung gewinnen kann. Ausserdem wurden stets einzelne Extractivstoffe bestimmt, fast ausschliesslich das Kreatin und Kreatinin, ohne Rücksicht auf die übrigen, im Muskel vorkommenden Extractivstoffe. Es ist angegeben worden, dass der Muskel in verschiedenen Zuständen mehr Kreatin, in anderen mehr Kreatinin enthielte; diese Angaben beruhen aber auf Täuschungen, denn bekanntlich enthält der normale Muskel allein oder fast allein Kreatin, das Kreatinin bildet sich erst aus demselben bei dem Abdampfen des Muskelextractes, wie es von Neubauer¹⁾ nachgewiesen ist.

Neubauer hat namentlich durch directe Versuche den Beweis geliefert, dass wenn man eine verdünnte Lösung von Kreatin eindampft, es in Kreatinin übergeht.

Von der Richtigkeit dieser Angabe von Neubauer hatte ich mehrere Male Gelegenheit, mich zu überzeugen,

¹⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. CXXXVII., S. 288.

denn auch in meinen Versuchen hing die Menge des gewonnenen Kreatins wesentlich davon ab, wie lange und bei welcher Temperatur das Muskelextract eingedampft wurde; je länger das Eindampfen dauerte und je stärker die Flamme war, desto weniger Kreatin und desto mehr Kreatinin wurden erhalten, aber wenn man das Letztere auf Kreatin berechnet, so bekommt man schliesslich doch dieselben Zahlen, wenn die zu untersuchenden Muskeln unter denselben Verhältnissen genommen sind.

Neubauer bestimmte fast sämtliche Extractivstoffe in den Muskeln und hat bekanntlich eine durchaus brauchbare Methode für die quantitative Bestimmung einzelner von ihnen angegeben, aber leider sind seine Versuche am Fleisch, wie man es vom Metzger bezieht, angestellt, und darum sind auch seine Resultate nicht im Stande, genügende Aufklärung über die physiologische Bedeutung dieser Stoffe zu geben.

Um zunächst nach einigen Richtungen hin diese Lücke in der Muskelchemie auszufüllen, unternahm ich auf Veranlassung des Herrn Prof. Hoppe-Seyler die folgenden Versuche, und zwar wählte ich für meine Bestimmungen die Muskeln normal ernährter und hungernder Thiere.

Aus zahlreichen Versuchen ist bekannt, dass das Gewicht der Muskeln während der Inanition sehr rasch abnimmt. Es geht aus diesem Verhalten hervor, dass die Muskeln auch bei ziemlich vollständiger Ruhe einen sehr bedeutenden Stoffwechsel besitzen, aber es liegen meines Wissens bis jetzt in der Literatur keine Ergebnisse von Untersuchungen vor, welche über die chemischen Veränderungen, die hierbei in den Muskeln eintreten, einen Aufschluss geben.

Als Versuchsobjecte benutzte ich die Pectoralmuskeln von Tauben, da schon in den Versuchen von Chossat¹⁾ sich herausgestellt hat, dass diese Muskeln bei der Inanition am stärksten abnehmen.

Chossat hat in einer grossen Anzahl von Bestimmungen nachgewiesen, dass die Pectoralmuskeln von Tauben

¹⁾ Recherches experimentales sur l'inanition. Paris, 1843.

bei der Inanition die Hälfte und sogar noch mehr ihres ursprünglichen Gewichts verlieren.

Ich beschaffte mir für meine Versuche möglichst gleiche, gut genährte Tauben, wobei ich mich bemühte, solche Tauben anzuschaffen, die früher unter gleichen Verhältnissen lebten, was mir auch meistentheils gelang, (nur in den Versuchen C und C' mussten die Thiere aus verschiedenen Orten bezogen werden, wesshalb ich auch über ihren Ernährungszustand nicht sicher war.) Die Tauben wurden in einen grossen, geräumigen Käfig gebracht und nur 10—14 Tage hindurch reichlich gefüttert, (in den Versuchen C und C' wurden sie aus Mangel an Zeit — nur 3 Tage gefüttert), dann gewogen. Nach der Wägung wurde allen Tauben das Futter entzogen und nach 24 Stunden Alle wieder gewogen.

Dieses Verfahren wurde bei allen Versuchen eingeschlagen, denn bei der ersten Wägung hatten alle Thiere den Kropf stark gefüllt und darum konnte auch nicht auf Grund der ersten Wägung ihr wirkliches Körpergewicht festgestellt werden. Dann wurden die Tauben in zwei Abtheilungen getheilt: Zu sechs für jeden Versuch (nur im Versuch A', wo eine Taube am 5. Hungertage starb, und im Versuch C, wo eine, der Inanition noch nicht ausgesetzte Taube, im Käfig todt gefunden war — wurden in Arbeit nur zu fünf Tauben für jeden dieser Versuche genommen), wobei ich sie so sortirte, dass das Gesamtgewicht der einen Abtheilung von 6 Tauben möglichst dem der Anderen gleich war; dann wurden die einen 6 — sofort getödtet; die übrigen sechs der Inanition ausgesetzt, wobei das Wasser ihnen nicht entzogen war.

Beim grössten Theil der Tauben traten am 6.—7. Hungertage profuse Diarrhöen auf; die Reaction des Magensaftes war bei allen Thieren, die acht Tage gehungert hatten, fast stets neutral; dagegen im Versuch C', wo die Tauben nur vier Tage hungerten, noch ziemlich stark sauer.

Im Versuch C und C', wurde das Gewicht der Herzen der Versuchsthierc bestimmt. Dabei erhielt ich für ein normales Herz das Gewicht von 2,814 gr. (Mittelwerth von fünf

Herzen) und für das Herz der hungernden Thiere 2,411 gr. (Mittelwerth von sechs Herzen). Daraus ist ersichtlich, dass das Herz bei Weitem nicht so durch die Inanition leidet, wie die Skelettmuskeln. Dies Resultat widerspricht Chossat's¹⁾ Angaben, denen zufolge auch das Herz bei der Inanition sehr rasch an Gewicht abnimmt. Ich möchte deshalb doch nicht auf Grund dieser einzelnen Bestimmung seine Resultate, die mit solcher Sorgfalt ausgeführt sind, angreifen; besonders, da bei seinen Versuchen die Inanition längere Zeit dauerte.

Ich bestimmte in den Pectoralmuskeln der normalen und der verhungerten Tauben das Kreatin + Kreatinin, Xanthin + Hypoxanthin und Milchsäure. Xanthin + Hypoxanthin wurden zusammen, als Hypoxanthin berechnet, weil die Menge des Xanthins in den Muskeln bekanntlich äusserst gering ist.

Ausserdem habe ich stets bei den normalen und verhungerten Tauben den Wassergehalt der Pectoralmuskeln bestimmt, deshalb konnten auch die erhaltenen Mengen der Extractivstoffe auf trockene Substanz berechnet werden (Tab. III.), um bei der procentischen Berechnung der Extractivstoffe den Einfluss der Schwankungen im Wassergehalt auszuschliessen.

Methode der Untersuchung.

Nach der Tödtung der Tauben wurden die Pectoralmuskeln abgenommen, so lange gehackt und mit der Scheere zerschnitten, bis die Muskulatur eine breiartige Consistenz bekam, dann wurde eine kleine Portion für die Bestimmung des Wassergehalts²⁾ genommen; der übrige Theil gewogen und nun mit der fünffachen Menge destillirten Wassers ex-

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Der Wassergehalt wurde aus folgenden Zahlen berechnet:

Vers. A	: 1,721-gr. feuchte Subst. bei 100° getr. gaben festen Rückst.	0,445
» A'	: 1,438	0,352
» B	: 0,713	0,190
» B'	: 1,329	0,328
» C	: 1,266	0,328
» C'	: 1,466	0,380

trahirt, mit dem Glasstab sorgfältig umgerührt und 4 Stunden stehen gelassen. Dann wurde die Flüssigkeit durch Leinwand filtrirt, der Rückstand mit $2\frac{1}{2}$ facher Menge Wasser abermals extrahirt, wieder 4 Stunden stehen gelassen, filtrirt und zum dritten Male dieselbe Procedur wiederholt, so dass in toto die Muskulatur mit der zehnfachen Menge Wasser extrahirt wurde. Bei der letzten Filtration wurde der Rückstand in kleinen Portionen möglichst ausgepresst. Die gesammten Extracte wurden auf freiem Feuer bis zur vollständigen Coagulation der Eiweissstoffe erhitzt, filtrirt und der Niederschlag so lange mit Wasser ausgewaschen, bis im Waschwasser nicht mehr Chlor nachzuweisen war. Aus dem so erhaltenen Filtrat wurden die Schwefel- und Phosphorsäure mit Barytwasser entfernt, der überschüssige Baryt durch CO_2 ausgefällt, filtrirt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade stark eingedampft, das dabei ausgeschiedene CBaO_3 abfiltrirt und nun bis zur dünnsyrupösen Consistenz eingedampft. Dann wurde die Flüssigkeit zur Krystallisation des Kreatins auf eine Woche an einen kühlen Ort gebracht, die ausgeschiedenen Kreatinkrystalle auf ein gewogenes Filter gebracht, zuerst mit kleinen Portionen Wasser und schliesslich mit Alkohol ausgewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Die Mutterlauge des Kreatins wurde mit absolutem Alkohol gefällt, mehrere Male umgerührt und über Nacht stehen gelassen. Dann wurde die alkoholische Lösung abfiltrirt und darin das Kreatinin bestimmt, welches nach Eindampfen der Lösung mit alkoholischer Chlorzinklösung ausgefällt wurde. Das nach 24 Stunden ausgeschiedene Chlorzinkkreatinin wurde auf ein gewogenes Filter gesammelt, mit starkem Alkohol ausgewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Das Filtrat wurde nach vollständiger Entfernung des Alkohols mit Salzsäure stark angesäuert und nun die Milchsäure mit grossen Portionen Aether unter energischem Schütteln extrahirt. Der Aether vorsichtig abgegossen, abdestillirt, der dabei erhaltene Rückstand mit Wasser versetzt, und dann mit Zinkcarbonat gekocht, filtrirt, das Filtrat bis zur Trockne eingedampft und das erhaltene milchsaure Zink bei 100° getrocknet und gewogen.

Der bei der Behandlung mit Alkohol entstandene Niederschlag wurde in Wasser aufgelöst, dann Ammoniak und kohlensaures Ammonium so lange zugefügt, bis kein Niederschlag mehr entstand, filtrirt und im Filtrat das Xanthin und Hypoxanthin mit NAgO_3 gefällt; der Niederschlag auf ein gewogenes Filter gebracht, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen.

Die auf diese Weise erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle I.

Versuche.	Zahl der Tauben.	Hungertage.	Gewicht der Muskeln.	Kreatin.	Chlorzink-Kreatinin.	Hypoxanthin-Silberoxyd	Milchsaures Zink.
A	6	—	316 gr.	0,173 gr.	0,032 gr.	0	1,753 gr.
A'	5	8	192 »	0,200 »	0,099 »	0,037	0,855 »
B	6	—	350 »	0,143 »	0,128 »	0	1,903 »
B'	6	8	228 »	0,416 »	0,025 »	0,090	1,146 »
C	5	—	294 »	0,072 »	0,293 »	0	1,183 »
C'	6	4	280 »	0,238 »	0,162 »	Spuren.	0,867 »

Versuche A, B, C sind mit normalen Tauben ausgeführt.

» A', B', C' » hungernden »

In folgender Tab. II. ist auf Grund der oben angeführten Zahlen der Procentgehalt dieser Stoffe auf feuchte Substanz berechnet, zusammengestellt, wobei das Chlorzinkkreatinin als Kreatin; Hypoxanthinsilberoxyd als Hypoxanthin und milchsaures Zink als Milchsäure berechnet ist. Dabei ist auch überall der Wassergehalt der Muskeln angegeben:

Tabelle II.

Versuche.	Hungertage.	Kreatin.	Hypoxanthin.	Milchsäure.	Wassergehalt.
A	—	0,062 ‰	0	0,410 ‰	74,142 ‰
A'	8	0,141 »	0,007 ‰	0,329 »	75,521 »
B	—	0,067 »	0	0,402 »	73,352 »
B'	8	0,190 »	0,015 »	0,371 »	75,319 »
C	—	0,096 »	0	0,297 »	74,091 »
C'	4	0,126 »	Spuren.	0,229 »	74,079 »

In der nächsten Tab. III. ist der Procentgehalt auf trockene Substanz berechnet:

Tabelle III.

Versuche.	Hunger- tage.	Kreatin.	Hypoxan- thin.	Milch- säure.
A	—	0,239 ⁰ %	0	1,585 ⁰ %
A'	8	0,576 »	0,028 ⁰ %	1,344 »
B	—	0,251 »	0	1,508 »
B'	8	0,769 »	0,060 »	1,503 »
C	—	0,370 »	0	1,146 »
C'	4	0,486 »	Spuren.	0,883 »

Wenn wir die Zahlen dieser Tabellen zusammenfassen, so kommen wir zu folgenden Resultaten:

1) Der Gehalt der Muskeln an Kreatin (dabei auch das Kreatinin zugerechnet) steigt sehr bedeutend bei hungernden Tauben; ja im vorgerückten Hungerzustand fast auf das dreifache im Vergleich mit demjenigen der normalen Thiere. Der Grund hiervon liegt meiner Ansicht nach in der Verlangsamung des Lymphstroms bei der Inanition. Wie bekannt, sinkt im Hungerzustande der Lymphstrom ad minimum, zufolge dessen das Kreatin nicht zur Ausscheidung gelangt und desshalb häuft es sich in den Muskeln an. Ausserdem ist nicht unwahrscheinlich, dass bei der Inanition auch mehr Kreatin gebildet wird, als im normalen Zustand, denn beim vorgeschrittenen Hungern wird das Leben der Thiere lediglich auf Kosten ihrer eigenen Eiweissstoffe erhalten.

2) Das zweite auffallende Resultat ist, dass bei normalen Tauben regelmässig das Xanthin + Hypoxanthin vollständig fehlt; dagegen bei langdauernder Inanition (Vers. A', B') verhältnismässig reichlich auftritt; im Versuch C', wo die Thiere nur 4 Tage hungerten, waren nur Spuren von Xanthin, die sich zu einer quantitativen Bestimmung nicht eigneten.

Die einzige Vermuthung, die ich zur Aufklärung dieser merkwürdigen Thatsache anführen möchte, ist die, welche schon Salomon¹⁾ für das Vorkommen des Hypoxanthins

¹⁾ Verhandl. d. physiol. Gesellsch. zu Berlin, 19. Okt. 1877.

im Leichenblute hervorgehoben hat. Es ist sehr möglich, dass auch bei normalen Tauben Xanthin in den Muskeln gebildet wird, aber zufolge des lebhaften Stoffwechsels, der im Organismus der Vögel vor sich geht, sofort weiter verändert wird; beim vorgerückten Hungerzustand dagegen ist eine Gelegenheit zur Anhäufung dieser Stoffe gegeben, da der Stoffwechsel sehr verlangsamt ist. Die in den Tabellen angeführten Resultate sprechen sehr zu Gunsten dieser Meinung; bei normalen Tauben liess sich nie Xanthin nachweisen, bei kurzdauernder Inanition (Vers. C') nur Spuren, dagegen bei längerem Hungerzustande fanden sich ziemlich reichliche Quantitäten.

3) Die Milchsäure, wie aus den Tabellen ersichtlich ist, nimmt bei der Inanition ab. Die Ursache dieser Erscheinung ist klar: Im Hungerzustande verschwindet Glykogen und Zucker aus den Muskeln und da die Milchsäure bei der Zersetzung dieser Stoffe entsteht, so ist ihre Menge bei hungernden Tauben vermindert. Desto merkwürdiger ist es, dass die hungernden Tauben verhältnissmässig noch reichlich Milchsäure enthielten (wie aus den Tabellen ersichtlich ist); ja, die Differenz bei den normalen und verhungerten Thieren gar nicht so auffallend ist, wie man es voraussetzen könnte. Daraus scheint mir, kann man mit grosser Bestimmtheit den Schluss ziehen, dass bei der Bildung der Milchsäure in den Muskeln die Eiweissstoffe wenigstens im Zustand der Inanition betheiligt werden. Denn wie wäre sonst dieses Auftreten der Milchsäure in so bedeutender Quantität zu einer Zeit (8 Hungertage), wo schon jede Spur der Kohlehydrate verbraucht ist, zu erklären?

Was den Wassergehalt der Muskeln bei der Inanition anbetrifft, so ist im vorgeschrittenen Hungerzustand (Tab. II, Vers. A', B') eine Zunahme von Wasser fast auf $1\frac{1}{2}$ bis 2% zu constatiren; dagegen scheint kurz dauernde Inanition keinen Einfluss auf den Wassergehalt der Muskeln zu haben (Tab. II. Vers. C').

Um einen Beitrag zur Frage nach dem Harnstoffgehalt der Muskeln zu liefern, versetzte ich einige Male die alko-

holische Lösung, nach der Entfernung des Kreatinins und der Milchsäure, mit unterbromigsaurer Natronlauge im Hufner'schen Apparat, wobei sich stets bei den normalen, sowie auch bei den hungernden Tauben noch wesentliche Mengen von N nachweisen liessen.

Um aber diese Versuche in grösserem Maassstabe ausführen zu können, verarbeitete ich Liebig'sches Fleischextract in folgender Weise: Nachdem ich aus dem Extracte nach der üblichen Methode das Kreatin entfernte, die Mutterlauge mit starkem Alkohol gefällt und aus der alkoholischen Lösung das Chlorzinkkreatinin und die Milchsäure entfernt waren, die Flüssigkeit vom überschüssigen Zink durch Bleioxyd befreit, das Blei durch SH_2 gefällt war, erhielt ich beim Eindampfen dieser alkoholischen Lösung eine Flüssigkeit von syrupöser Consistenz, die bei der Behandlung mit unterbromigsaurem Natron im Hufner'schen Apparat, reichlich N entwickelte. Um mich zu überzeugen, ob dieser N-haltige Körper Harnstoff ist, wie es Picard¹⁾ und Sinety²⁾ angeben, verfuhr ich auf folgende Weise: Ich fällte die eingedampfte alkoholische Lösung mit basischem Bleiacetat, wodurch bekanntlich der Harnstoff nicht gefällt wird; es entstand ein reichlicher Niederschlag, der abfiltrirt wurde. Im Filtrat und im Niederschlage wurde das Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt. Das Filtrat entwickelte im Hufner'schen Apparat reichlich Stickstoff, dagegen gab der Niederschlag nur sehr geringe Quantitäten. Also ist es wahrscheinlich, dass das Fleischextract, resp. die Muskeln, Körper enthalten, die dem Harnstoff ähnlich constituirt, vielleicht substituirte Harnstoffe sind. Jedenfalls ist es nicht gerechtfertigt, wie es Sinety thut, den ganzen bei der beschriebenen Behandlung mit unterbromigsaurem Natron erhaltenen Stickstoff als Harnstoff zu berechnen, da auch die durch basisches Bleiacetat gefällten Stoffe, die nicht wohl Harnstoff enthalten können, Stickstoff in geringer Quantität entwickeln.

¹⁾ Comptes rendus 87, p. 533, 1878.

²⁾ Gaz. médic. de Paris 1878, p. 365.

Zum Schluss halte ich es für meine angenehme Pflicht, Herrn Professor Hoppe-Seyler und Herrn Dr. Herter für ihre äusserst freundliche Unterstützung bei allen meinen Arbeiten im hiesigen Laboratorium meinen herzlichsten Dank auszusprechen.
