

## Zur Frage nach dem Harnstoffgehalt der Muskeln.

Von Dr. B. Demant.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg).

(Der Redaktion zugegangen am 21. August 1880).

Trotzdem neuerdings von verschiedenen Autoren der Harnstoffgehalt der Muskeln als so sicher angesehen wurde, dass sogar quantitative Bestimmungen desselben versucht worden sind, ist dennoch die Existenz des Harnstoffs in den Muskeln noch nicht in exacter Weise nachgewiesen worden. Es wurde die Entwicklung von Stickstoff auf Zusatz von unterbromigsaurem Natron oder die von Kohlensäure durch Millon's Reagens zum Nachweis des Harnstoffs in dem Extrakt der Muskeln benutzt, aber diese Methoden sind vollständig unbrauchbar, da sich in den Muskelextracten stets reichlich Kreatin befindet, welches sich in ganz ähnlicher Weise gegen das unterbromigsaure Natron, wie der Harnstoff verhält<sup>1)</sup>, und welches sich ausserdem bei weitem nicht so leicht aus den Extracten vollständig ausscheiden lässt, wie man es gewöhnlich annimmt. (Siehe unten). Ob die Muskeln in der Norm wirklich Harnstoff oder andere dem Harnstoff verwandte Körper ausser Kreatin und Kreatinin enthalten, muss demnach als eine noch offene Frage betrachtet werden. Deshalb machte ich dieselbe auf den Rath des Herrn Prof. Hoppe-Seyler zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung. Das eingeschlagene Verfahren war folgendes: Aus 10 Pfund frischen, mageren Pferdefleisches wurde ein Wasserextrakt dargestellt, daraus durch Coagulation die Eiweissstoffe entfernt, filtrirt, aus dem Filtrat die Schwefel- und Phosphorsäure durch Baryt ausgeschieden, der überschüssige Baryt durch

<sup>1)</sup> Hüfner, Journal f. prakt. Chemie 1871, p. 1.

CO<sub>2</sub> entfernt, filtrirt, das Filtrat zur dünnsyrupösen Consistenz eingedampft und der Krystallisation überlassen. Das ausgeschiedene Kreatin wurde abfiltrirt und die Mutterlauge mit absolutem Alkohol extrahirt.

Die auf solche Weise erhaltene alkoholische Lösung musste den etwa vorhandenen Harnstoff enthalten:

Es wurden zunächst daraus das Kreatinin und die Milchsäure in der bekannten Weise entfernt und die zurückgebliebene Masse mit basischem Bleiacetat gefällt. (Die Fällung muss sehr vorsichtig ausgeführt werden, da der dabei entstehende Niederschlag sich leicht im Ueberschuss des Fällungsmittels auflöst). Das nach der Entfernung des Bleiniederschlages erhaltene Filtrat wurde durch SH<sub>2</sub> entbleit, filtrirt und auf dem Wasserbade eingedampft. In der eingedampften Flüssigkeit schied sich im Laufe von wenigen Stunden eine sehr reichliche Menge von Krystallen ab, ja die ganze Masse erstarrte zu einem Brei. Die Krystalle wurden von der Mutterlauge getrennt umkrystallisirt, die Mutterlauge stärker eingedampft und dabei abermals eine sehr reichliche Krystallisation erhalten; es wurde so lange in der nämlichen Weise fortgefahren, bis keine Krystallisation mehr stattfand, wozu dieselbe Procedur 4—5 Mal wiederholt wurde. Die weitere Untersuchung der mehrfach gereinigten Krystalle ergab, dass sie fast ausschliesslich aus Kreatin bestanden; nur der bei Weitem kleinere Theil bestand aus Chlorkalium; ja die Menge des dabei erhaltenen Kreatins ist bedeutend grösser, als die ursprüngliche, die nach dem gewöhnlichen Liebig'schen Verfahren erhalten wird. Bei Verarbeitung von Liebig'schem Fleischextrakt erhielt ich dasselbe Resultat, d. h., in dem in der oben beschriebenen Weise behandelten Alkoholauszug schied sich ebenfalls eine reichliche Menge von Kreatin ab. Daraus ist ersichtlich, dass wenn die Liebig'sche Methode sich für vergleichende Kreatinbestimmungen in den Muskeln eignet, sie doch für solche Bestimmungen, bei denen es auf die absolute Menge des Kreatins ankommt, unbrauchbar ist, da bei dem gewöhnlichen Verfahren bei Weitem nicht das ganze Kreatin erhalten wird; für letztere Zwecke muss auch das in die

alkoholische Lösung übergegangene Kreatin in der angegebenen Weise gewonnen werden. Da reines Kreatin in Alkohol unlöslich ist, so bleibt für die Erklärung dieser Beobachtung nur die einzige Vermuthung, dass im Fleischextrakt sich ein Körper befindet, der das Kreatin in alkoholische Lösung überführt<sup>1)</sup>. Es wäre von Interesse, zu verfolgen, ob bei der Neubauer'schen Methode das Kreatin sich ebenso verhält. Der Alkoholauszug wurde nach vollständiger Entfernung des Kreatins in drei Theile getheilt: zwei davon wurden in besonderen Portionen mit Barytwasser und mit grossem Ueberschuss von Aetzbaryt versetzt, in einem mit aufsteigendem Kühler verbundenen Kolben gekocht. Die sich dabei entwickelnden alkalischen Dämpfe wurden in einer Vorlage mit verdünnter Salzsäure aufgefangen. Nach 36 stündigem Kochen, als schon keine wesentliche Gasentwicklung mehr zu beobachten war, wurde die HCl aus der Vorlage rasch auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol aufgenommen, filtrirt, das Filtrat mit Platinchlorid gefällt, wobei ein reichlicher gelber Niederschlag entstand, der abfiltrirt und vollständig mit Alkohol ausgewaschen wurde. Dann wurde ein Theil des Niederschlages in warmen Wasser aufgelöst, in einem gewogenen Porzellanliegel eingedampft, bis zum constanten Gewicht getrocknet, verbrannt und wieder gewogen. Zwei auf solche Weise ausgeführte Bestimmungen aus verschiedenen Darstellungen ergaben einen Platingehalt, der mit der Formel  $(\text{NH}_4)_2 \text{PtCl}_6$  übereinstimmt; also handelte es sich um ein einfaches, nicht substituirtes Ammoniak, was aus folgenden Zahlen ersichtlich ist:

	Menge $(\text{NH}_4)_2 \text{PtCl}_6$	Darin Pt in gr.	Pt in ‰
I.	0,628 gr.	0,274	43,630
II.	0,425 »	0,186	43,769

Die Formel  $(\text{NH}_4)_2 \text{PtCl}_6$  verlangt 44,186‰ Pt.

<sup>1)</sup> Oscar Jacobsen fand bei ähnlicher Behandlung des Fleischextraktes von *Phocaena communis*, dass auch hier etwas Kreatin in das Alkoholextrakt überging. Annalen d. Chemie, Bd. 157, p. 227, 1871.

Der dritte Theil wurde mit Wasser verdünnt und mit einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd in der für Harnstoffbestimmungen gebräuchlichen Weise titirt; dabei entstand ein reichlicher, weisser, flockiger Niederschlag. Dieser wurde abfiltrirt, ausgewaschen, mit  $\text{SH}_2$  zersetzt und filtrirt, das Filtrat bis zur syrupösen Consistenz eingedampft und längere Zeit stehen gelassen. Es erfolgte keine Krystallisation; die Masse wurde nun mit Alkohol gewaschen, welcher einen Theil derselben aufnahm; jetzt schieden sich in der von Neuem in Wasser gelösten syrupösen Flüssigkeit Krystalle ab, die ihrem Aussehen nach dem salpetersauren Harnstoff ähnlich waren; den grössten Theil dieser syrupösen Masse gelang es nicht zur Krystallisation zu bringen.

Aus dem Erwähnten kann man mit aller Sicherheit den Schluss ziehen; dass die Muskeln einen Harnstoff oder einen ähnlich constituirten Körper (Guanidin?) enthalten; wenn es ein Harnstoff ist, so kann er nicht substituirt sein, da er beim Kochen mit Baryt einfaches Ammoniak liefert. Sicher können die Eigenschaften dieses Körpers nur dann festgestellt werden, wenn es gelingt ihn in grösserer Menge rein darzustellen.

Schliesslich möchte ich noch hervorheben, dass wenn quantitative Bestimmungen von Harnstoff in den Muskeln auszuführen sind, sie nur dann eine Beweiskraft besitzen können, wenn die Muskeln vor der Ausfällung des Harnstoffs in der oben beschriebenen Weise behandelt werden, und insbesondere für die vollständige Entfernung des Kreatins Sorge getragen wird.

Zum Schluss benutze ich die Gelegenheit, Herrn Prof. Hoppe-Seyler und Herrn Dr. Herter für ihre äusserst freundliche Unterstützung bei meinen Arbeiten meinen besten Dank auszusprechen.

---