

Beiträge zur Kenntniss des Kreatinins.

Von
Emil Wörner.

(Aus der chem. Abtheilung des physiolog. Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 2. Februar 1899.)

Vor einigen Jahren veröffentlichte G. St. Johnson¹⁾ mehrere Abhandlungen über Kreatin und Kreatinin und deren Vorkommen im Muskel und Harn, in denen er nachzuweisen versuchte, dass die aus Harn, Muskel oder Kreatin erhaltenen Kreatinine verschiedene Isomere darstellen, welche durch geeignete Bedingungen in einander übergeführt werden können: er stützte diese Behauptung durch Unterschiede in der Löslichkeit, Krystallform, Krystallwassergehalt, Reductionsvermögen und namentlich durch Verschiedenheiten im Verhalten der Gold- und Platindoppelsalze dieser Kreatinine verschiedenen Ursprungs. Diese Ergebnisse fanden allerdings keinen ungetheilten Glauben, da manche der Johnson'schen Versuche nicht ganz einwandfrei erschienen.

Einer gütigen Anregung von Herrn Prof. Thierfelder Folge gebend, unternahm ich es daher, die Angaben Johnson's einer Nachprüfung zu unterziehen, wobei ich durch Herrn Dr. M. Thelen in dankenswerther Weise unterstützt wurde.

Während ich mit dem Abschluss dieser Versuche die leider durch äussere Umstände mehrfache Unterbrechungen

1) *Proced. of the roy. Soc.* **42**, 365. **43**, 493—534, **50**, 287—302.

erleiden mussten, beschäftigt war, kam mir erst eine Arbeit von Toppelius und Pommerehne¹⁾ zu Gesicht, welche denselben Gegenstand behandelte.²⁾

Diese Autoren verwandten zu ihren vergleichenden Versuchen Kreatinin aus Harn und Fleischextract, und Kreatinin aus Harnkreatin und synthetischem Kreatin, während ich Harn- und Fleischextractkreatinin und Kreatinin aus Harn-, Muskel- und Fleischextractkreatin zum Vergleich heranzog, im wesentlichen dieselben Präparate, die auch Johnson in den Bereich seiner Untersuchungen zog.

Johnson bediente sich zur Abscheidung des Kreatinins aus dem Harn nach dem Vorschlage von Maly³⁾ des Quecksilberchlorids. Er versetzte den frischen Harn mit $\frac{1}{5}$ seines Volumens kalt gesättigter Natriumacetatlösung und $\frac{1}{4}$ Volumen kalt gesättigter Quecksilberchloridlösung und filtrirte den sofort auftretenden Niederschlag rasch ab. Nach kurzer Zeit beginnt dann die Abscheidung einer feinkörnigen kugeligen Quecksilberchloriddoppelverbindung des Kreatinins: in Form dieses Niederschlags soll nach 48 Stunden alles Kreatinin ausgefällt sein. Dies ist aber in der That nicht der Fall, wie schon Huppert⁴⁾ gelegentlich beobachtet hat. Ein weiterer Zusatz von Natriumacetat und Quecksilberchlorid bewirkt erneut eine Fällung. Zur völligen Abscheidung des Kreatinins sind erheblich grössere Mengen von Quecksilberchlorid nöthig.

Der Niederschlag stellt auch durchaus kein reines Kreatininquecksilberchloriddoppelsalz dar, wie das Johnson annimmt, der direkt vorschlägt, aus der Menge desselben die

1) Arch. f. Pharm. 234, 380—97.

2) Herr Prof. Schmidt, Marburg, gibt in einer kleinen Abhandlung (Archiv f. Anat. u. Physiol., Physiolog. Abth. 98, 373) kurz den Inhalt dieser Arbeit nochmals wieder, da ich es in einem kurzen vorläufigen Referat (Verhandl. der physiolog. Ges. zu Berlin 97/98, 25. obiges Archiv 98, 266) über diesen Gegenstand durch ein Versehen unterlassen hatte, die genannte Arbeit anzuführen, obwohl ich bei dem Vortrag selbst auf dieselbe Bezug genommen hatte.

3) Liebig's Ann. 159, 279.

4) Anl. z. Analyse d. Harns v. Neubauer u. Vogel, 9. Aufl. bearb. v. Huppert, pag. 236.

Kreatinmenge zu berechnen, sondern er enthält noch andere stickstoffhaltige Substanzen, über welche ich in Bälde Weiteres berichten zu können hoffe.¹⁾

Die Quecksilberfällung zersetzte Johnson mit Schwefelwasserstoff, filtrirte und verdunstete zur Krystallisation. Dabei schieden sich aus den Harnpräparaten immer wasserfreie Blättchen von salzsaurem Kreatinin ab, während aus Fleisch unter diesen Umständen Blättchen mit einem Molekül Krystallwasser erhalten wurden. Entfernte er aus den Lösungen der so erhaltenen Chloride die Salzsäure durch Behandeln mit frischgefälltem Bleihydroxyd in der Kälte — in der Wärme bildet sich reichlich Kreatin —, so erhielt er, je nachdem er das Eindampfen der Lösungen im Vacuum bei 60° oder 100° vornahm, Kreatininkrystalle von verschiedenem Aussehen (effloresc. Kr., tabulair Kr. α, tabulair Kr. β), die bald wasserfrei, bald wasserhaltig waren und durch Erhitzen ihrer wässerigen Lösungen auf 60° und Verdunsten bei der entsprechenden Temperatur in einander übergeführt werden konnten. Hiervon ist soviel richtig, dass sowohl das freie Kreatinin wie das salzsaure Salz mit und ohne Krystallwasser und in verschiedenen Formen zu krystallisiren vermögen.

Lässt man eine kaltgesättigte Lösung von salzsaurem Kreatinin langsam an der Luft verdunsten, so erhält man Krystalle, welche 1 Molekül Krystallwasser enthalten, während aus heissen Lösungen, besonders wenn sie noch freie Salzsäure enthalten, stets wasserfreie Krystalle erhalten werden, wie dies auch Toppelius und Pommerehne²⁾ festgestellt haben. Dieser Wassergehalt wurde sowohl durch Bestimmung

1) Kolisch (Centralblatt für inn. Med. 95, 265—269) hat auf die von Johnson angewandte Fällungsmethode eine quantitative Bestimmung des Kreatinins gegründet, indem er den analog von Neubauer erhaltenen phosphatfreien alkoholischen Harnauszug mit einer essigsäuren alkoholischen Sublimatlösung und Natriumacetat ausfällte und aus dem N-Gehalt des Niederschlags das Kreatinin berechnete. Diese Methode bietet noch viel weniger Garantie für eine reine Kreatininfällung und muss als völlig unbrauchbar verworfen werden.

2) l. c.

des Gewichtsverlustes bei 100°, wie durch Bestimmung des N-Gehaltes der wasserhaltigen Substanz nach Kjeldahl nachgewiesen.

I. Salzsaures Harnkreatinin:

0,091 Substanz lieferten 0,0238 N = 26,15 %
 0,53 » verloren 0,0541 H₂O = 10,20 %.

II. Salzsaures Fleischkreatinin:

0,199 Substanz lieferten 0,0525 N = 26,38 %
 0,3201 » verloren 0,0337 H₂O = 10,52 %.

Berechnet für:



N = 25,74 %

H₂O = 10,74 %

Gefunden:

H. — Kr. F. — Kr.

26,15 % 26,38 %

10,20 % 10,52 %

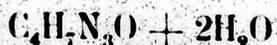
Ueberlässt man kaltgesättigte wässrige Kreatininlösungen der freiwilligen Verdunstung, so scheiden sich sehr häufig grosse Tafeln oder Prismen mit 2 Molekülen Krystallwasser ab,¹⁾ während aus heiss gesättigten Lösungen stets wasserfreie Blättchen anschliessen. Die wasserhaltigen Krystalle verwittern ungemein leicht.

Zur Bestimmung des Wassergehaltes wurden die schönsten Krystalle aus der Mutterlauge herausgefischt, durch Zerreiben zwischen Filtrirpapier getrocknet, dann sofort abgewogen und bei 100° zur Gewichtsconstanz gebracht.

0,302 H. — Kr. verloren 0,071 H₂O = 23,50 %

0,241 F. — Kr. » 0,0568 » = 23,56 %.

Berechnet für:



H₂O = 24,16 %.

Gefunden:

H. Kr. — F. — Kr.

23,50 % 23,56 %.

Die von Johnson bei seinen verschiedenen Kreatininen beobachteten Differenzen in der Löslichkeit in Wasser (1: 10,6 bei 14°, 1: 10,78 bei 17°, 1: 10,68 bei 16,5°) sind derartig gering, dass aus ihnen ernstlich wohl nur die Identität, aber keine Verschiedenheit gefolgert werden kann. Die Löslichkeit in Alkohol haben Toppelius und Pommerehne²⁾ nachgeprüft und auch dabei keine erheblichen Unterschiede gefunden.

¹⁾ In Neubauer-Vogel, Analyse des Harns etc., 10. Aufl., b. von Huppert, ist irrthümlicherweise 2½ Moleküle angegeben.

²⁾ l. c.



Die Platindoppelsalze.

Die aus den verschiedenen salzsauren Kreatininen erhaltenen Platinchloriddoppelsalze waren völlig identisch. Sie schieden sich aus heissen wässerigen Lösungen in gelbrothen Säulchen mit 2 Molekülen Krystallwasser ab. Aus alkoholischen Lösungen erhält man wasserfreie Krystalle. Das wasserfreie Salz schmilzt bei raschem Erhitzen bei 220—225°, das wasserhaltige etwas niedriger. Toppelius und Pommerehne beobachteten, dass ihre Präparate bei raschem Erhitzen ziemlich übereinstimmend bei 210° schmolzen. Es scheint, dass sie die wasserhaltigen Salze zu ihren Schmelzpunktbestimmungen verwandt haben: wenigstens machen sie keine gegentheiligen Angaben.

Die Goldsalze.

Die erheblichsten Verschiedenheiten wiesen die Goldsalze Johnson's auf. Er erhielt sie in Form gelber Blättchen, wenn er die salzsaure Lösung des Kreatinins mit Goldchlorid versetzte und über Schwefelsäure im Vacuum verdunstete. Sie waren sämmtlich wasserfrei, verhielten sich aber sehr verschieden gegen Aether. Das Goldsalz des Harnkreatinins wurde durch Aether nicht verändert: das des aus Harnkreatin erhaltenen Kreatinins wurde durch Aether zersetzt, indem Goldchlorid in Lösung ging und salzsaures Kreatinin zurückblieb; das aus Fleischkreatinin endlich löste sich in Aether, zersetzte sich aber beim freiwilligen Verdunsten der Aetherlösung.

Toppelius stellte sich die Goldsalze in der Weise dar, dass er einer kaltgesättigten salzsauren Kreatininlösung eine hinreichende Menge Goldchlorid zusetzte, worauf sich sehr bald grosse gelbe Blätter der Doppelverbindung abschieden. Ich fand es noch zweckmässiger, das salzsaure Kreatinin bei 40—50° in möglichst wenig Wasser zu lösen und dazu wenig mehr als die berechnete Menge Goldchlorid in Lösung zuzugeben. Die Flüssigkeit erstarrt dann sehr bald zu einem Brei von prächtigen, goldgelben Blättchen, welche abgesaugt und mit einer Mischung aus Alkohol und Aether nachgewaschen wurden.

Man erhält so immer krystallwasserfreie Chlorgolddoppelsalze. Sie sind in Wasser und Alkohol sehr leicht löslich, unlöslich aber in Aether. Reiner Aether verändert dieselben durchaus nicht, wohl aber wasser- oder alkoholhaltiger, wobei in der Hauptsache Goldchlorid in Lösung geht, während etwas salzsaures Kreatinin zurückbleibt. In keinem Falle tritt aber glatt völlige Lösung ein, wie Johnson bei dem Goldsalze seines Fleischkreatinins beobachtete. Toppelius gibt an, dass sich die Goldsalze in viel Aether auflösen unter Hinterlassung eines gelblichweissen Rückstandes, welcher Kreatininreaction gab. Diese Beobachtung muss wohl auf Verwendung nicht ganz reinen Aethers zurückgeführt werden, während bei Johnson doch auch unreine Goldsalze mitgespielt haben müssen, zumal da bei der Art, wie er dieselben darstellte, eine Beimengung von überschüssigem Goldchlorid sehr leicht möglich erscheinen muss.

Erhitzt man die Lösung des Goldsalzes zum Sieden, so tritt Zersetzung ein, indem alles Gold metallisch abgeschieden wird. Die Lösung vermag aber noch weit mehr Goldchlorid zu reduciren.

Die bei 100° getrockneten Präparate schmolzen bei 170–174°; auch hier beobachtete ich, dass selbst so geringe Wassermengen, wie sie den nur lufttrockenen Präparaten anhängen, den Schmelzpunkt herabzudrücken vermögen. Brieger¹⁾ fand ihn bei 168°, Toppelius²⁾ bei 162° liegend.

Kreatininpikrat.

Das von Jaffé³⁾ zuerst dargestellte Kreatininpikrat schien mir besonders geeignet für den Identitätsbeweis der verschiedenen Präparate, weil es sehr leicht in grosser Reinheit zu erhalten ist und einen scharfen Schmelzpunkt besitzt.

Fügt man zu einer wässerigen Kreatininlösung Pikrinsäurelösung, so scheidet sich sehr bald das Pikrat in Gestalt schöner gelber Nadeln ab, die durch Umkrystallisiren

1) Plomaine III, 86.

2) l. c.

3) Diese Zeitschrift, Bd. X. S. 398.

aus heissem Wasser oder Alkohol leicht gereinigt werden können.¹⁾

Den Schmelzpunkt des pikrinsauren Kreatinins fand ich in Uebereinstimmung mit Pommerehne bei 212—213°, während Brieger²⁾ 240° angibt.

Diese Angabe darf wohl berichtigt werden, da sowohl Pommerehne wie ich bei einer Reihe von Präparaten des verschiedensten Ursprungs stets übereinstimmend obige Werthe gefunden haben.

Auch hierbei verhielten sich also die verschiedenen Präparate durchaus gleich.

Sämmtliche Kreatininpräparate gaben die von Kramm³⁾ neuerdings beschriebene Nitrosoverbindung, wenn man ihre alkalische Lösung so lange mit Nitroprussidnatrium versetzte, als noch Rothfärbung eintrat, und dann mit Essigsäure ansäuerte. Bei genügender Concentration erstarrte die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei der Nitrosoverbindung, die in allen Fällen die von Kramm angegebenen Eigenschaften hatte.

Völlig gleich war auch das Verhalten der verschiedenen Kreatininpräparate gegen Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure. Ueber die Eigenschaften und Zusammensetzung dieser Verbindungen soll demnächst gesondert berichtet werden.

Sehr mannigfach und verschieden sind die Angaben, welche sich über das Reductionsvermögen des Kreatinins gegen alkalische Kupferlösung in der Litteratur finden.

Worm-Müller⁴⁾ stellte fest, dass sich nur Kupferoxydul

1) Auch aus einer mit Pikrinsäurelösung versetzten Kreatinlösung scheidet sich schon nach kurzem Stehen ebenfalls Kreatinipikrat ab.

A. Kossel*) gibt beim mikroskopischen Nachweis des Kreatins an, dass sich Kreatinkrystalle beim Uebergiessen mit einer alkoholischen Pikrinsäurelösung mit einer «filzigen Auflagerung von pikrinsaurem Salz» überziehen. Auch dieser dünne Ueberzug stellt pikrinsaures Kreatinin dar, wie durch die Rothfärbung beim Lösen in verdünnter Natronlauge und durch den Schmelzpunkt leicht nachgewiesen werden kann.

2) l. c.

3) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 35, S. 785—787.

4) Pflüger's Archiv, Bd. XXVII. S. 59—86.

*) Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung v. Behrens, Kossel und Schieferdecker Bd. I. S. 284.

abscheidet, wenn ein genügender Ueberschuss von Kupfer vorhanden sei, während sonst das reducirte Kupfer in Lösung gehalten würde. In der That kommt es in allen Fällen zur Abscheidung von Kupferoxydul, wenn nur die Menge des reducirten Kupfers nicht gar zu klein ist und wenn genügend lange erhitzt wird. Es scheint, dass das zuerst reducirte Kupfer anfänglich als Kreatinin-Kupferoxydul, eine Verbindung, die Maschke¹⁾ zuerst dargestellt hat, in Lösung bleibt; erhitzt man dann weiter, so zerfällt auch diese Verbindung, und es kommt zur Abscheidung des Kupferoxyduls, ein Umstand, der besonders bei der quantitativen Bestimmung des reducirten Kupfers Beachtung verdient. Ueber die Mengen von Kupferoxyd, welche durch das Kreatinin reducirt werden sollen, gehen die Angaben der verschiedenen Autoren sehr auseinander.

Worm-Müller²⁾ sagt, ein Molekül Kreatinin scheine selbst beim Erhitzen mit viel Kupfer nicht mehr als 0,75 Moleküle Kupferoxyd zu reduciren.

Die andern Angaben beziehen sich fast alle auf Zucker, d. h. sie geben die Traubenzuckermengen an, denen das Kreatinin in der Reductionswirkung gleichkommt. Ich habe diese Werthe auf Kupfer umgerechnet (180 Traubenzucker = 315 Cu), in nachstehender Tabelle zusammengestellt, um die verschiedenen Angaben besser miteinander vergleichen zu können. Die Zahlen geben an, wieviel metallisches Kupfer einem Molekül Kreatinin entspricht.

Worm-Müller ³⁾	47,25
Johnson ⁴⁾	
Kreatinin aus Fleisch	140,00
» Harn	157,50
» Harnkreatin	126,00
Moritz ⁵⁾	163,36
Toppelius und Pommerehne ⁶⁾	
Kochdauer 2 Minuten	108,48
» 3 »	143,73
» 5 »	175,50

1) Zeitschr. f. analyt. Chem., Bd. XVII, S. 134.

2) l. c.

3) l. c.

4) l. c.

5) Arch. f. klin. Med., Bd. XLVI, S. 243.

6) l. c.

Ich habe mich bei meinen Versuchen ziemlich genau an die Angaben von Toppelius und Pommerehne¹⁾ gehalten und je 60 ccm. Fehling'scher Lösung mit 5 ccm. Kreatininlösung zum Sieden erhitzt und verschieden lange im Sieden gehalten. Das abgeschiedene Kupferoxydul wurde in bekannter Weise als Kupfer zur Wägung gebracht. Die Kreatininlösung war hergestellt durch Auflösen von 1,495 gr. reinen getrockneten salzsauren Kreatinins in 100 ccm. Wasser: sie war also $\frac{1}{10}$ molekular.

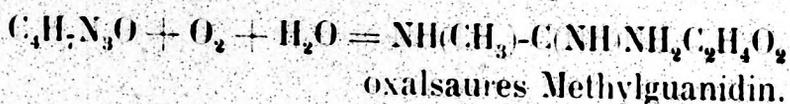
Unter Einhaltung obiger Mengenverhältnisse wurden die in nachstehender Tabelle zusammengestellten Werthe erhalten:

Kochdauer in Minuten	Gewogenes Cu	Kupfer für 4 Mol. Kreatinin
5	0,0888	} 175,1
	0,0863	
10	0,0914	} 181,8
	0,0940	
	0,0872	
	0,0910	
20	0,1066	213,2
30	0,137	} 268,0
	0,131	
60	0,1321	} 269,8
	0,1377	

Es geht daraus hervor, dass bei Innehaltung gleicher Bedingungen auch gleiche Werthe zu erhalten sind, da meine für 5 Minuten Kochzeit gefundenen Zahlen mit denen von Toppelius und Pommerehne für die gleiche Zeit gefundenen genau übereinstimmen. Dann zeigen meine Werthe, wie langsam die Reduction fortschreitet. Erst bei einstündigem Kochen scheint ein gewisser Stillstand einzutreten. Die bis dahin

1) l. c.

reducirte Kupfermenge scheint mir darauf hinzudeuten, dass die Oxydation nach folgender Gleichung verläuft:



1 Molekül Kreatinin wird also 2 Moleküle Sauerstoff zur Oxydation nöthig haben, was = 4 Molekülen Cu = 252 entspricht.

Eine genaue Feststellung dieses Verhältnisses scheidet daran, dass die Fehling'sche Lösung bei derartig langem Kochen selbst nicht unerhebliche Kupfermengen abzuschneiden beginnt.

Zur Zeit, als ich die Reductionsversuche ausführte, stand mir nur noch absolut reines Kreatinin aus Harn zur Verfügung, so dass ich Kreatinin aus anderer Herkunft nicht mehr zum Vergleich heranziehen konnte.

Ich glaube aber, dass die vorhergehenden Versuche auch allein schon zur Genüge beweisen, dass die von Johnson erhobenen Zweifel an der Identität des aus Harn oder Muskel erhaltenen Kreatinins jeder Berechtigung entbehren.

In der letzten Abhandlung sucht Johnson¹⁾ noch festzustellen, ob im Muskel Kreatin oder Kreatinin vorkommt, und findet dabei, dass der Muskel nur Kreatinin, kein Kreatin enthalte: das Kreatin entstehe erst nach dem Tode durch Einwirkung von Bakterien: dieser Vorgang spiele sich aber schon ab, lange bevor der allgemein als Fäulniss bezeichnete Process eintrete.

Er suchte dies so nachzuweisen, dass er ganz frisches, zerkleinertes Kuhfleisch mit Wasser durchknetete und sogleich auspresste. Die Auszüge vermischte er dann sofort mit ungefähr dem gleichen Volumen gesättigter Quecksilberchloridlösung, wodurch Eiweiss und Blutfarbstoff ausgefällt und durch Filtration abgetrennt wurden.

Andere Fleischmengen blieben vor dieser Behandlung

¹⁾ l. c. 50. 287—302.

erst 24—36 Stunden lang liegen und der Bakterieneinwirkung überlassen. Aus den filtrirten Auszügen, bei denen durch den Sublimatgehalt jede Bakterieneinwirkung ausgeschlossen war, schied sich das Kreatinin als Quecksilberchloriddoppelverbindung ab, doch war diese Abscheidung erst nach wochen-, ja monatelangem Stehen beendet. Das Quecksilberchloriddoppelsalz wurde dann in bekannter Weise auf Kreatinin verarbeitet.

Aus den Filtraten von der Kreatininfällung wurde das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff, die Salzsäure durch Bleihydroxyd entfernt und zum Syrup verdunstet. Hierbei lieferten nur diejenigen Portionen, welche vor der Verarbeitung längere Zeit gelegen hatten, Krystalle von Kreatin, welchen Umstand Johnson auf die Thätigkeit von Bakterien zurückführen zu müssen glaubt. Johnson selbst stellt in seiner Arbeit fest, dass auch eine reine Kreatinlösung bei längerem Stehen, sogar schon nach 24 Stunden, Abscheidungen von Kreatinin-Quecksilberchlorid liefert, zieht aber trotzdem daraus nicht den so naheliegenden Schluss, dass bei seiner Art der Darstellung des Kreatinins aus dem Muskel das Kreatinin erst aus Kreatin entsteht, wohl weil er eben das aus Fleisch erhaltene Kreatinin verschieden hielt von den andern. So verleitet ihn diese irrthümliche Beobachtung zu einem neuen Fehler, obwohl ihm doch der zeitlich so überaus grosse Unterschied in der Abscheidungsgeschwindigkeit der Quecksilberverbindungen — 2 Tage gegen mehrere Monate — hätte zu denken geben müssen.

Kemmerich¹⁾ bestätigt übrigens gelegentlich diese Angaben, insofern er in frischem, gutem Fleischextracte nur Kreatinin, kein Kreatin fand, während er selbst früher — und viele andere vor und nach ihm — in der Hauptsache nur Kreatin gefunden hatte. Er meint, dieser auffällige Befund bedürfe der Aufklärung. Ich halte es für nicht ganz unwahrscheinlich, dass in ganz frischem Fleischextract sich in der Regel mehr Kreatinin als Kreatin finden wird, besonders wenn das Eindampfen recht lange Zeit in Anspruch genommen hat: so gibt

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XVIII, S. 411.

doch eine reine Kreatinlösung schon nach einmaligem Aufkochen die Weyl'sche Reaction. Beim Lagern des Extractes kann ja dann wieder eine Rückbildung stattfinden.

Dass für den Kaninchenmuskel die Angaben Johnson's nicht zutreffen, konnte K. A. H. Mörner¹⁾ schon gelegentlich feststellen, als er das aus frischen und gefroren zerriebenen Muskeln erhaltene Plasma bei 0° stehen liess. Es schieden sich dabei sehr bald Krystalle ab, die sich als Kreatin erwiesen, obgleich hierbei an eine Bakterienwirkung nicht zu denken war.

Zur Nachprüfung der Angaben Johnson's wurde reines Muskelfleisch frisch getödteter Thiere zerkleinert und direkt mit einer verdünnten Sublimatlösung extrahirt, um die von Johnson gefürchtete Bakterienwirkung auszuschliessen. Es wird so die Hauptmenge der Eiweisskörper ausgefällt, während Kreatin und Kreatinin neben anderen Extractivstoffen in Lösung bleiben. Der nach kurzem Stehen abgepresste und filtrirte Muskelauszug kann in der Regel direkt zur Anstellung der Weyl'schen Probe verwandt werden. Sollte er noch viel Quecksilberchlorid enthalten, so ist dies vor dem Anstellen der Weyl'schen Probe zu entfernen, da sonst bei Zusatz von Natronlauge eine Fällung eintritt, welche sämtliches Kreatinin enthält. Man kann daher auch ohne Weiteres diese Fällung mit Schwefelwasserstoff zersetzen und das concentrirte Filtrat auf Kreatinin prüfen.

In dieser Weise untersucht, gab der Kaninchenmuskelauszug gar keine Weyl'sche Reaction, Hunde- und Rindermuskel aber nur eine sehr schwache. Eine deutliche Rothfärbung gaben aber alle 3 Auszüge, nachdem sie einige Zeit auf dem Wasserbade mit verdünnter Schwefelsäure erhitzt worden waren.

Die Hauptmenge der Auszüge wurden dann mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure völlig ausgefällt. Hierbei geht Kreatinin in den Niederschlag, Kreatin bleibt in der Lösung.

1) Skandinav. Arch. f. Physiologie, Bd. V. S. 272.

Dem Phosphorwolframsäureniederschlag wurde das phosphorwolframsaure Kreatinin durch mehrmaliges Auskochen mit heissem Wasser entzogen; die erhaltenen Lösungen wurden mit Aetzbaryt bis zur alkalischen Reaction versetzt, dann mit Kohlensäure gesättigt, filtrirt und so Phosphorwolframsäure und überschüssiger Baryt entfernt. Mit dem nach dem Verdunsten gebliebenen Rückstand wurde dann die Weyl'sche Probe angestellt. Rind- und Hundemuskel gaben dabei eine sehr deutliche Reaction, während der Kaninchenmuskelauszug nur eine sehr schwache Rothfärbung gab, was im besten Einklange mit den Beobachtungen steht, die bei direkter Ausführung der Weyl'schen Probe im Muskelauszug gemacht wurden.

Aus den Filtraten von der Phosphorwolframsäurefällung wurden die Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure durch überschüssigen Baryt, dieser wieder durch Kohlensäure entfernt und zur Krystallisation verdunstet. In dem nach dem Erkalten gebliebenen Krystallbrei konnte das Kreatin schon durch seine Krystallform erkannt werden. Es wurde dann durch Behandeln mit Säuren in Kreatinin übergeführt und als solches durch die bekannten Reactionen identificirt.

Aus diesen Versuchen geht mit Sicherheit hervor, dass im Muskel normaler Weise Kreatin neben wenig Kreatinin vorkommt, wodurch die gegentheiligen Beobachtungen Johnson's hinfällig werden und die älteren Angaben wieder zu Recht bestehen.