

# Zur Kenntnis des Kreatins und Kreatinins im Organismus.

Von

Dr. **Wincenty Czernecki,**

Demonstrator der internen Klinik in Lemberg.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

Der Redaktion zugegangen am 24. März 1905.)

Das Verhalten eingeführten Kreatins und Kreatinins im Organismus ist trotz vieler darauf gerichteter Arbeiten, namentlich aus älterer Zeit — C. v. Voit,<sup>1)</sup> Ph. Munk,<sup>2)</sup> Meissner,<sup>3)</sup> Zaleski,<sup>4)</sup> Oppler,<sup>5)</sup> Ssubotin,<sup>6)</sup> Schiffer<sup>7)</sup> — noch durchaus nicht hinreichend erforscht. Es steht nicht fest, wieviel von eingeführtem Kreatin unverändert resp. als Kreatinin im Harn erscheint, wieviel in Harnstoff übergeht. Die Beantwortung dieser Fragen wird durch den normalen Kreatiningehalt des Harns erschwert, außerdem durch die außerordentliche Leichtigkeit, mit der Kreatin in Kreatinin und umgekehrt dieses in Kreatin übergeht. Während wir nun für die quantitative Bestimmung des Kreatinins im Harn einigermaßen brauchbare Methoden besitzen, ist das für das Kreatin nicht der Fall. Die Frage nach dem etwaigen Übergang des Kreatins oder Kreatinins in Harnstoff konnte von den älteren Forschern überhaupt nicht beantwortet werden, da sie nicht über Methoden

<sup>1)</sup> Voit, Zeitschrift f. Biologie, Bd. IV, S. 77 (1868).

<sup>2)</sup> Ph. Munk, Deutsch. Klin., 1862, S. 299.

<sup>3)</sup> Meissner, Zeitschr. f. rat. Med., 3. Reihe, Bd. XXIV, S. 100 (1865), und Bd. XXVI, S. 225 (1866).

<sup>4)</sup> Zalesky, Untersuchungen über den urämischen Prozeß. Monographie.

<sup>5)</sup> Oppler, Virchows Archiv, Bd. XXI, S. 260.

<sup>6)</sup> Ssubotin, Zeitschrift für rat. Med., 3. Reihe, Bd. XXVIII, S. 114 (1866).

<sup>7)</sup> Schiffer, Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 237 (1880).

zur isolierten Bestimmung des Harnstoffs verfügten. Die weitere Frage nach der Entstehung des Kreatins oder Kreatinins im Organismus ist bisher überhaupt kaum in Angriff genommen worden.

Auf Veranlassung von Prof. E. Salkowski habe ich begonnen, mich mit diesen Fragen zu beschäftigen. Bezüglich der Bildung des Kreatins oder Kreatinins — diese sind hinsichtlich ihrer Entstehung natürlich als gleichwertig anzusehen — sollte in Verfolgung der naheliegenden Vermutung, daß bei seiner Entstehung eine Methylierung im Organismus im Spiele ist, geprüft werden, ob das Glykocyamin vielleicht im Organismus in Kreatin bzw. Kreatinin übergeht. War dieses der Fall, so war die Entstehung des Kreatins im Organismus unserem Verständnis immerhin erheblich näher gerückt.

Das Glykocyamin, die Guanidinessigsäure, ist ein Homologes der Guanidinbuttersäure, die Kutscher durch Oxydation des Arginins erhalten hat. Das Arginin entsteht vermutlich regelmäßig im Organismus, da Kutscher und Lohmann<sup>1)</sup> es bei der Pankreasverdauung gefunden haben: es ist wohl denkbar, daß seine Oxydation auch im Organismus erfolgt und über Guanidinbuttersäure zu Guanidinessigsäure führt. Es ist außerdem daran zu erinnern, daß Kutscher und Otori auch Guanidin unter den Produkten der Pankreasverdauung aufgefunden und der Möglichkeit gedacht haben, daß das Guanidin die Muttersubstanz des Kreatins sein könne.<sup>2)</sup>

Von Methylierungen im Organismus sind schon mehrere Beispiele bekannt. Am genauesten untersucht ist von Hofmeister<sup>3)</sup> die Bildung von Tellurmethyl im Gesamtorganismus und in den verschiedensten Organen aus telluriger Säure, nachdem Chr. Gmelin schon im Jahre 1824 der eigentümliche lauchartige Geruch aufgefallen war, der sich beim Eröffnen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 413.

<sup>2)</sup> Zentralbl. f. Physiok., Nr. 8 (Juli 1904). Diese Publikation lag zur Zeit der Ausführung der vorliegenden Arbeit noch nicht vor. Dieselbe ist bereits im Sommer 1903 ausgeführt. Die Publikation hat sich aus äußeren Gründen verzögert.

<sup>3)</sup> Arch. f. exp. Pathol., Bd. XXXIII, S. 198 (1894).

der Bauchhöhle eines mit telluriger Säure vergifteten Kaninchens bemerkbar machte.

Schon vor Hofmeister hat W. His<sup>1)</sup> festgestellt, daß der Harn von Hunden nach Verabreichung von essigsäurem Pyridin eine Base enthält, welche als Methylpyridylammoniumhydroxyd aufzufassen ist.

Einen dritten Fall von Methylierung beobachtete H. Hildebrandt<sup>2)</sup> am Thymotinpiperidid. Dasselbe wird im Organismus des Kaninchens in eine entsprechende Methylammoniumbase umgewandelt und mit Glukuronsäure gepaart ausgeschieden.

Hierzu kommt noch aus neuester Zeit der von G. Salomon und C. Neuberger<sup>3)</sup> mit großer Wahrscheinlichkeit geführte Nachweis, daß das Heteroxanthin, 7-Methylxanthin, im Organismus des Hundes durch Methylierung des Xanthins entsteht.

Wie ich beim Nachlesen der Hofmeisterschen Arbeit nachträglich fand, hat auch Hofmeister schon die Vermutung ausgesprochen, daß die Körper der Cholin- und Kreatin-Gruppe durch Methylierung im Organismus entstehen möchten.

Meine Versuche sind an Kaninchen angestellt. Zur Wahl dieser Tiere bestimmten mehrere Umstände: 1. enthält der Harn derselben normalerweise sehr wenig Kreatinin oder Kreatin: aus eingeführter Substanz entstehendes Kreatin mußte also leichter nachweisbar sein: 2. ist die Mehrzahl der bisherigen Beobachtungen von Methylierung an Kaninchen gemacht: 3. entbehrt die übliche Methode der Kreatininbestimmung im Hundeharn der durchaus erforderlichen Sicherheit. Nach einer persönlich gemachten Mitteilung von Professor E. Salkowski kommt es bei Hundeharn mitunter vor, daß die Methode versagt. Es kommt vor, daß sich aus einem Hundeharn, der nach der Weylschen Reaktion reich an Kreatinin ist, gar kein Kreatininchlorzink ausscheidet oder nur eine ganz minimale, dem Kreatinidgehalt sicher nicht entsprechende Quantität. Allerdings ist gegen die Wahl von Kaninchen als Versuchstiere der

---

<sup>1)</sup> Arch. f. exp. Pathol., Bd. XXII, S. 253 (1887).

<sup>2)</sup> Arch. f. exp. Pathol., Bd. XLIV, S. 278 (1900).

<sup>3)</sup> Festschrift für E. Salkowski, S. 37 (1904).

Einwand nicht unberechtigt, daß bei ihnen die Bedingungen zur Bildung von Kreatin möglicherweise überhaupt nicht in erheblichem Umfange gegeben seien. Inwieweit dieser Einwand berechtigt ist, mußten in gewissem Sinn die Versuche ergeben: negativer Ausfall des Versuches mit Glykocyamin bewies nichts gegen die Möglichkeit des Vorganges überhaupt.

Die Kaninchen wurden reichlich mit wasserreichen Vegetabilien in abgewogenen Mengen gefüttert, das Nähere hierüber enthalten die Tabellen. Der Harn wurde in Käfigen gesammelt und alle Sorgfalt auf die Ausschließung von Zersetzungen verwendet. Die entleerten Harnportionen wurden möglichst bald in die zur Sammlung bestimmte Flasche gegossen und mit Chloroform durchgeschüttelt. Die einzelnen Perioden wurden durch Abdrücken der Blase abgegrenzt. Eine Schwierigkeit bei der Kreatininbestimmung bietet unzweifelhaft der leichte Übergang desselben in Kreatin: um ihn möglichst zu verhindern, wurden die Harne mit Salzsäure deutlich angesäuert, auch in die zum Aufsammeln dienenden Gefäße einige Tropfen Salzsäure gegossen, sodaß der Harn sofort saure Reaktion annahm. Da die Harne vor der Verarbeitung auf Kreatinin einige Tage stehen blieben, so ist anzunehmen, daß auch etwa im Harn vorhandenes Kreatin in Kreatinin übergegangen war. Die Verarbeitung auf Kreatin wurde garnicht erst versucht, da die hierfür angegebenen Verfahren nicht auf die Bezeichnung einer irgendwie quantitativen Methode Anspruch machen können. — Der Harn wurde in je 48 Stunden gesammelt.

In demselben wurden stets bestimmt:

1. N nach Kjeldahl (stets doppelt),
2. Ammoniak nach Schlösing,
3. Harnstoff nach Mörner-Sjöqvist. Das Abdampfen der Lösung mit Magnesia vor der Behandlung nach Kjeldahl ist unterlassen, weil Ammoniak stets nur in Spuren nachweisbar war.

4. Kreatinin nach Neubauer mit der von E. Salkowski angegebenen Modifikation.

Da die Harne stark sauer reagierten, wurden sie von der Fällung mit Kalkmilch und Chlorecalcium mit Natron nahezu

neutralisiert: die Quantität der Kalkmilch wurde möglichst klein bemessen. Das schwach alkalisch reagierende Filtrat wurde unter Essigsäurezusatz eingedampft. Enthielt der Harn wenig Kreatinin, so dauerte die Ausscheidung von Kreatinchlorzink außerordentlich lange: es wurde in der Regel 8 Tage gewartet. Dabei ist nicht zu vermeiden, daß an den Wandungen des Becherglases etwas Chlornatrium auskristallisiert. Wenn Zweifel darüber bestehen, ob das Filter außer dem Kreatinchlorzink nicht auch Chlornatrium enthielt, wurde der Niederschlag auf dem Filter mit Wasser behandelt. Bei der harten körnigen Beschaffenheit des Kreatinchlorzinks ist nicht zu befürchten, daß sich dabei merkliche Mengen desselben lösen, während das Chlornatrium in Lösung geht. Nicht selten trat auffallenderweise unmittelbar nach dem Zusatz von Chlorzinklösung ein flockiger Niederschlag in geringer Menge auf. Meistens löste sich derselbe leicht in einigen Tropfen zugesetzter Essigsäure; geschah dieses nicht, so wurde abfiltriert. In allen Fällen, in denen eine Ausscheidung von Kreatinchlorzink nicht eintrat, wurde ein Teil der Lösung durch Eindampfen von Alkohol befreit und dann die Weylsche Reaktion angestellt: sie fiel stets positiv aus, bald stärker, bald schwächer.

5. Mit Rücksicht auf die Angabe von Schiffer, daß der Harn von Kaninchen, denen man Kreatin beigebracht hat, Methylharnstoff enthält, wurde stets eine Harnquantität — meistens rund 100 ccm — nach dem Vorgange von Schiffer nach Zusatz von Natronlauge destilliert, das Destillat mit Salzsäure angesäuert, eingedampft und mit Alkohol ausgezogen. Mit dem alkoholischen Auszug wurde die Isonitritreaktion angestellt. Wie hier gleich bemerkt werden mag, fiel sie in allen Fällen positiv aus. Ein stärkerer Ausfall nach Fütterung mit Kreatin und Kreatinin konnte nicht mit Sicherheit konstatiert werden.

Mitunter machte es allerdings den Eindruck, als ob die Reaktion stärker sei als normal, aber auch in dem Harn, welcher einige Tage nach der Glykocyamidinfütterung entleert wurde, schien sie stärker zu sein, wie normal. Ein bestimmter Nachweis der Bildung von Methylamin aus Kreatin läßt sich durch einfache Geruchsreaktionen offenbar nicht erbringen. Sehr häufig

wurde auch die Isonitrilreaktion mit der abgedampften und weiter durch Alkoholextraktion bearbeiteten Lösung aus dem Schlösingschen Apparat nach dem Titrieren mit Natronlauge gemacht, stets mit negativem oder zweifelhaftem Erfolge.

Von Präparaten, die in Lösung bzw. Suspension mit der Schlundsonde eingegeben wurden, kamen zur Anwendung: Kreatin, Kreatinin, Glykocyamin und Glykocyamidin. Die beiden ersten Präparate wurden käuflich von Merck bezogen.

Die Darstellung des Glykocyamins geschah nach der Vorschrift von Nencki und Seiler.<sup>1)</sup>

12 g Guanidinkarbonat und 10 g Glykokoll wurden in einem Rundkölbchen mit wenig Wasser bis zur Lösung erwärmt, dann auf dem Sandbad bis zur reichlichen Entwicklung von  $\text{CO}_2$  und  $\text{NH}_3$  erhitzt. Wenn die Temperatur der Schmelze  $140^\circ$  beträgt, läßt man erkalten und scheidet das gebildete Glykocyamin durch Zusatz von Wasser ab. Die Mutterlauge wird der gleichen Behandlung unterworfen und liefert noch eine reichlichere Quantität Glykocyamin. Die nach dem Waschen mit Wasser schon fast reine Substanz wurde in Natronlauge gelöst und mit Essigsäure ausgefällt; sie ist nunmehr nach dem Auswaschen erst mit Wasser, dann mit Alkohol absolut rein.

Ein kleiner Teil des angewendeten Glykocyamins ist nach dem alten Verfahren von Strecker<sup>2)</sup> aus Glykokoll und Cyanamid erhalten. Zur Synthese diente das Cyanamidnatrium der Frankfurter Gold- und Silberscheideanstalt, das mit Salzsäure zuerst neutralisiert und dann mit der äquivalenten Menge Glykokoll und einigen Tropfen Ammoniak versetzt wurde. Nach etwa 6 Tagen kristallisiert dann reines Glykocyamin aus.

Zur Umwandlung in das Cyamidin wurde Glykocyamin mit Salzsäure übergossen, durch Abdampfen in das Chlorhydrat verwandelt, dieses dann bei  $160^\circ$  geschmolzen. Die Lösung desselben, genau mit Natronlauge neutralisiert, kam zur Anwendung. Die Überführung des salzsauren Glykocyamidins in die freie Base mit Bleikarbonat etc. schien in diesen Fällen entbehrlich zu sein.

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. XVII, S. 478 (1881).

<sup>2)</sup> Compt. rend., Bd. LH, S. 1212 (1861).

	Datum	Gewicht des Tieres	Harnmenge und spez. Gewicht	N		N als Harnstoff			Kreatinin (als Kreatinchlorzinn bestimmt)		Weyls Reaktion im Harne	NH <sub>3</sub>	Faeces		Futter	Bemerkungen
				%	pro 2 Tage	%	pro 2 Tage	% des Ges.-N	%	pro 2 Tage			Menge	N im wässerigen Auszug		
	1903 7./7.—9./7.	3550	660/	0,45375	2,995	0,35	2,31	77,1	0,04009	0,265	Sehr deutlich	0,0	—	—	7./7. und 8./7. à 200 g Mohrrüben und 300 » Kohlrabi	
	9./7.—11./7.	3500	760/1015	0,41475	3,152	0,315	2,394	75,9	Sehr deutliche Spuren	—	Deutlich	Minimale Spuren	—	—		
	11./7.—13./7.	3400	935/1011	0,308	2,880	0,252	2,356	81,8	Schwach positiv	—	Deutlich	Minimale Spuren	—	—		
	13./7.—15./7.	3300	900/1013	0,3255	2,929	0,287	2,583	88,1	Schwach positiv	—	Deutlich	Minimale Spuren	—	—		
	15./7.—16./7.	3350	445/1010 ein Tag!	0,35	1,558 ein Tag!	—	—	—	0	—	Deutliche Spuren	0,0	—	—	16./7. 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Uhr. 1,5 g Glykocyamin per Schlundsonde (kleiner Verlust)	
Glykocyamin	16./7.—18./7.	3350	840/1012	0,385	3,234	0,28	2,352	72,7	0	—	Deutliche Spuren	Deutlichere Spuren	—	—	17./7. zurückgeblieben 52 g Kohlrabi	17./7. 11 Uhr. 2,0 g 18./7. 11 » 2,0 » 19./7. 11 » 2,0 » } mit sehr kleinem Verlust
	18./7.—20./7.	3220	600/1014	0,5635	3,381	0,476	2,856	84,4	0,009	0,054	Deutlich positiv	Minimale Spuren	—	—	20./7. zurückgeblieben 300 g Kohlrabi 50 » Mohrrüben	20./7. geringe Neigung zum Durchfall
	20./7.—22./7.	3300	900/1010	0,3465	3,119	0,266	2,394	76,7	0,0348	0,303	Deutlich positiv	0,0	—	—		
	22./7.—24./7.	3200	1000/1013	0,357	3,57	0,273	2,73	76,4	0,0278	0,278	Positiv	Minimale Spuren	—	—		
Kreatin	24./7.—26./7.	3150	900/1013	0,2905	2,615	0,231	2,079	79,5	Spuren	—	Positiv	0,0	11,99	0,066		24./7. 1,0 g Kreatin
	26./7.—28./7.	3150	920/1010	0,31725	2,919	0,259	2,383	81,6	0,0223	0,195	Positiv	0,0	—	—		25./7. 1,0 » 26./7. 1,0 » 27./7. 0,9 » } per Schlundsonde
	28./7.—30./7.	3150	800/1014 kl. Verlust + 30 ccm	0,36925	2,954	0,287	2,296	77,7	Schwach positiv	—	Positiv	Deutlichere Spuren	10,67	0,064		
	30./7.—1./8.	3150	1000/1013	0,3605	3,605	0,259	2,590	71,8	0,0135	0,135	Positiv	0,0	1,2	0,009		
	1./8.—3./8.	—	1000/1014	0,40075	4,008	0,357	3,570	89,1	Schwach positiv	—	Deutliche Spuren	Minimale Spuren	0,95	0,007		
	18./9.—20./9.	2550	1260/1014	0,26775	3,374	0,238	2,999	88,8	Deutliche Spuren	—	Sehr schwach	0,0	19,38	0,013	Jeden Tag 300 g Kohlrabi 300 g Mohrrüben	II. Tier
	20./9.—22./9.	2500	1310/1012	0,273	3,576	0,224	2,934	82,05	S. schwach positiv	—	Sehr schwach	Minimale Spuren	1) —	—		1) Das Tier scheint seine Faeces aufgefressen zu haben
	22./9.—24./9.	2500	1100/1015	0,33075	3,638	0,301	3,311	91,0	S. schwach positiv	—	Deutlich	Minimale Spuren	1) —	—		
Kreatinin	24./9.—26./9.	2490	1350/1011	0,29225	3,946	0,273	3,686	93,4	0,0741	0,999	Sehr deutlich	Minimale Spuren (?)	4,16	nicht untersucht		24./9. } 11 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Uhr vormittags und 25./9. } 3 Uhr 45 Min. nachm. jedemal 1 g Kreatinin per Schlundsonde
	26./9.—28./9.	2550	1110/1010	0,2555	2,811	0,21	2,331	82,9	0,0054	0,059	Deutliche Spuren	0,0	sehr wenig	—		
	28./9.—30./9.	2520	1100/1013	0,35	3,850	0,329	3,619	94,1	Deutliche Spuren	—	Schwach positiv	0,0 (?)	30,15	0,056		
Glykocyamidin	30./9.—2./10.	2420	1400/1010	0,2835	3,969	0,266	3,724	93,8	Deutliche Spuren	—	Schwach positiv	Minimale Spuren	0	0	In 2 letzten Tagen zurückgeblieben 231 g Kohlrabi, 100 g Mohrrüben	30./9. und 1./10. 11 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Uhr vormittags und gegen 4 Uhr nachmittags jedesmal 1 g salzsaures Glykocyamidin mit etwa 20 ccm 1/2-N.-NaOH neutralisiert.
	2./10.—4./10.	2550	1000/1016	0,41125	4,113	0,357	3,570	86,8	Spuren	—	Positiv	0,0	19,95	0,232	Zurückgeblieben 100 g Mohrrüben	Jedesmal ca. 30 ccm Flüssigkeit; nach den Einspritzungen machte das Tier einen etwas kranken Eindruck. Dünne Entleerungen und Unlust zum Fressen.
	4./10.—6./10.	2550	1200/1014	0,37625	4,515	0,315	3,780	83,7	Spuren	—	Schwach positiv	Minimale Spuren	5,5	0,106		
	6./10.—8./10.	2550	1150/1014	0,308	3,542	0,217	2,496	70,4	nicht untersucht	—	Schwach positiv	Minimale Spuren	3,28	0,028		
	8./10.—10./10.	2550	1175/1013	0,29225	3,434	0,259	3,043	88,6	nicht untersucht	—	Schwach positiv	—	7,75	0,068		

Betrachten wir nun die Ergebnisse der Tabelle:

### 1. Glykocyamin.

Die 4 ersten Tage der Vorfütterung können außer Betracht bleiben, da sich an diesen offenbar die Wirkung des früheren augenscheinlich eiweißreicheren Fütterns langsam abspielte.

Im Mittel der verbleibenden 5 Tage der Vorperiode betrug die N-Ausscheidung 1,472 g; nach der Glykocyaminfütterung im Mittel 1,683 g, das Plus beträgt pro Tag 0,211 g, also für 8 Tage 1,688. Gefüttert sind 7,5 g Glykocyamin mit 2,699 g N, es sind somit unter der Voraussetzung, daß der Eiweißzerfall im Körper keine wesentliche Steigerung erfuhr, 62,54% des Stickstoffs des verfütterten Glykocyamin im Harn erschienen. In welcher Form?

Ammonsalze waren im Harn nur in Spuren vorhanden. Die Betrachtung der Zahlen für den Harnstoff (N als Harnstoff) zeigt, ohne daß eine genauere Berechnung nötig wäre, ohne weiteres, daß die Ausscheidung des Stickstoffs, des Glykocyamins jedenfalls nur zum Teil in Form von Harnstoff erfolgt sein kann. Die Kreatininbestimmungen ergeben anscheinend, daß wenigstens ein gewisser Bruchteil die Form des Kreatinins angenommen hat. Welchem Bedenken dieser Schluß unterliegt, soll weiter unten erörtert werden.

### 2. Kreatin.

Bezüglich des Kreatins befinden wir uns in einer sehr schwierigen Lage. Das langsame kontinuierliche Ansteigen des N zeigt, daß die durch das Kreatin bewirkte N-Vermehrung des Harns sehr langsam auftritt und aller Wahrscheinlichkeit nach in der Periode  $\frac{1}{8}$  bis  $\frac{3}{8}$ , als der Versuch aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußte, da die Kreatininbestimmungen noch weitere 8 Tage in Anspruch nahmen, noch nicht beendet war.

Die N-Ausscheidung an den 5 Tagen, die wir als normale betrachten, beträgt 7,359 g, also an 10 Tagen 14,718 g. An den 10 Tagen, die wir als unter dem Einfluß des Kreatins stehend ansehen müssen, sind ausgeschieden 16,091 g, ver-



füttert sind 3,9 g Kreatin mit 1,250 N. Es ist demnach nicht allein aller N des Kreatins wieder erschienen, sondern noch ein kleines Plus. Man muß daraus schließen, daß unter dem Einfluß des Kreatins Körpereiß zum Zerfall gelangt ist. Voraussichtlich würde sich diese Wirkung noch weiter fortgesetzt haben, wenn das Tier länger beobachtet wäre.

In welcher Form ist der Stickstoff des Kreatins wieder erschienen? Der N des Harnstoffes beträgt an 4 Normaltagen (an einem ist die Bestimmung mißglückt) 4,939 g, also an 10 Tagen 12,348 g; an den 10 Kreatintagen 12,918 g, das Plus 0,510 g, es ist also noch nicht die Hälfte des eingeführten Kreatins in Harnstoff übergegangen, die größere Hälfte in anderer Form ausgeschieden. Was die Art des Überganges in Harnstoff betrifft, so ist es sehr wohl möglich, daß wenigstens ein Teil des Kreatins im Darmkanal durch Bakterientätigkeit unter Ammoniakabspaltung zersetzt und das Ammoniak dann in Harnstoff übergegangen ist. Über die Form der größeren Hälfte des Kreatins geben die erhobenen Befunde keinen genügenden Aufschluß. Die Kreatininausscheidung ist unzweifelhaft etwas vermehrt, sie deckt aber lange nicht das N-Plus. Es ist möglich, daß ein Teil unverändert ausgeschieden ist; leider ergab sich diese Vermutung erst durch die Berechnungen zu einer Zeit, wo die Möglichkeit der Untersuchung nach dieser Richtung nicht mehr vorhanden war. Da wir zur Zeit eine Methode zur Bestimmung des Kreatins im Harn nicht besitzen, so hätte eine solche erst ausgearbeitet werden müssen.

Jedenfalls geht aus den Versuchen mit Kreatin hervor, daß nur ein sehr kleiner Teil des eingegebenen Kreatins als Kreatinin im Harn erscheint. Auch dieses Ergebnis muß uns in der Deutung der Kreatininvermehrung nach Glykocyaminfütterung mißtrauisch machen, obwohl sie eine solche nicht ausschließt: das eingegebene Kreatin unterliegt der Wirkung der Darmbakterien und es ist wohl möglich, daß mit Umgehung des Darmes eingeführtes Kreatin, wenn dies nach den Löslichkeitsverhältnissen des Kreatins möglich wäre, sich wesentlich anders verhalten würde. Dasselbe würde natürlich für durch Methylierung aus dem Glykocyamin etwa entstehendes Kreatin gelten.

## 3. Kreatinin.

Die N-Ausscheidung in den 6 Tagen der N-Periode beträgt 10,588 g, also pro Tag 1,765 g, ist also bedeutend höher wie im vorigen Versuch: vermutlich ist der N-Gehalt der verfütterten Vegetabilien in der späten Jahreszeit — 6½ Wochen nach dem Abschluß der ersten Versuchsreihe — ein höherer gewesen, auch war das Futterquantum etwas größer. An den 6 unter Kreatinineinfluß stehenden Tagen sind ausgeschieden 10,607 g N, also nur 0,019 N mehr: eingeführt sind 4 g Kreatinin mit 1,487 N. Demnach wäre nun ein unbedeutender Bruchteil des Kreatinins zur Resorption gelangt. Diese Schlußfolgerung ist, da die Nahrung dieselbe war und Durchfälle nicht bestanden, bei einem so leichtlöslichen Körper offenbar ungereimt. Zudem ergab die Untersuchung des Harns, daß etwa die Hälfte des Kreatinins als solches ausgeschieden war. Zieht man nur die beiden der Kreatininfütterung entsprechenden Tage in Betracht, so zeigt sich ein erhebliches Ansteigen des Stickstoffs und eine Zunahme des als Harnstoff ausgeschiedenen N. Für das auffallende Minus an N bei der obigen Berechnung ist es schwer, eine Erklärung zu geben. Es scheint, als ob Verluste an Harn stattgefunden haben, wenn von solchen auch nichts bekannt ist. Für diese Annahme spricht eine Betrachtungsweise, auf die Prof. E. Salkowski wiederholt aufmerksam gemacht hat. Eine Kontrolle über die Vollständigkeit der Harnaufsammlung in Fällen, in denen Grund vorliegt, eine gleichmäßige Harnausscheidung anzunehmen, erhält man, wenn man die Harnmenge mit den beiden letzten Dezimalen des spezifischen Gewichts multipliziert. Diese Zahl beträgt:

18. bis 20. IX.	17640
20. bis 22. IX.	15720
22. bis 24. IX.	16500
dagegen 26. bis 28. IX.	nur 11100.

## 4. Glykocyamidin.

Die gesamte N-Ausscheidung an 10 Tagen nach der Glykocyamidinfütterung betrug 19,573 g, die tägliche Ausscheidung in der Vorperiode 1,765 g, also an 10 Tagen 17,65 g, das Plus

der Glykocyamidinperiode beträgt also 1,923 g. Eingeführt sind in 4 g salzsaurem Glykocyamidin 1,24 g N, die Ausscheidung übertrifft also die Einfuhr um ein Beträchtliches, nämlich 0,683 g. Das Glykocyamidin muß also eine nicht unbeträchtliche Steigerung des Eiweißzerfalles bewirkt haben und das um so mehr, als auch die N-Ausscheidung durch den Darm nicht unerheblich war, während sie in den früheren Versuchen so gering war, daß es sich gar nicht lohnt, sie in Rechnung zu ziehen. Allerdings kommt dabei in Betracht, daß das Tier vorher vielfach seine Faeces auffraß, wie ja auch aus den minimalen vorgefundenen Quantitäten hervorgeht. Es ist also nicht zulässig, die nach der Glykocyamidinfütterung in den Faeces gefundene Quantität Stickstoff auf diese Periode zu beziehen. Die Mehrausscheidung an N beruht sicher, wie ein Blick auf die Tabelle lehrt, zum großen Teil auf Vermehrung der Harnstoffausscheidung. Eine genauere Berechnung unterlasse ich, da sie bei der bestehenden abnormen Mehrausscheidung an N im Harn doch wenig Wert hätte.

Kreatinin ist sicher nicht in vermehrter Menge ausgeschieden worden, ein sehr auffälliges Resultat, wenn man es mit dem anscheinend mit Glykocyamin erhaltenen positiven Resultat vergleicht. Ich komme damit auf die schon aufgeworfene Frage zurück: ist nach Glykocyaminfütterung wirklich Kreatinin gebildet, wie es nach den Ergebnissen der quantitativen Bestimmungen scheint?

Gegen diese Annahme spricht die stets gleichzeitig ausgeführte Prüfung mit Nitroferriidcyanatium + Natronlauge. Diese — die Weylsche Reaktion — ergab auch an den Tagen der Glykocyaminfütterung nur ein schwach positives Resultat. Könnte die scheinbare Kreatininchlorzinkausscheidung nicht zum Teil, vielleicht zum größten Teil, Glykocyamidin-Chlorzink sein? (Damit ist nun freilich, nebenbei bemerkt, noch immer nicht die Differenz in dem Verhalten des Cyamins und Cyamidins erklärt.) Um diese Frage zu entscheiden, wurde ein neuer Versuch gemacht, in dem einem Kaninchen (anderes Tier) wiederum an 4 aufeinander folgenden Tagen je 2 g, im ganzen 8 g Glykocyamin in Wasser suspendiert mit der Schlund-

sonde eingegeben wurde und der Harn unter Ansäuern und Chloroformzusatz aufgesammelt wurde. Der Harn gab nur eine schwache Weylsche Reaktion, auch ganz frisch untersucht. Die Arbeit von Folin,<sup>1)</sup> in der F. u. a. ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Kreatinins auf kolorimetrischem Wege mit Hilfe von Pikrinsäure beschreibt, war noch nicht erschienen. Die ganze Quantität des Harns — abgesehen von der kleinen abgenommenen Probe — wurde nach dem üblichen Verfahren auf Kreatininchlorzink verarbeitet. Es sollte durch die Analyse festgestellt werden, ob die erhaltene Chlorzinkverbindung Kreatininchlorzink oder Glykocyamidinchlorzink sei. Die Ausbeute an Chlorzinkverbindung war aber leider so geringfügig — noch nicht 0,1 g —, daß an Analysen nicht zu denken war, um so weniger, als die wässrige Lösung der Verbindung starke Weylsche Reaktion gab, es sich also sicher nicht nur um Glykocyamidinchlorzink handelte.

Zieht man in Betracht, daß die Reaktion des Harns auf Kreatinin in allen Fällen nach Glykocyaminfütterung recht schwach war, so kommt man zu dem Schluß, daß eine Methylierung des Glykocyamins mindestens nicht bewiesen ist.

Es wurde in diesem Falle noch versucht, unverändertes Glykocyamin in den Faeces und dem Harn nachzuweisen.

Das Verfahren zum Nachweis beruht auf folgender Beobachtung. Glykocyamin ist in Alkohol unlöslich, löst sich dagegen leicht, wenn man den Alkohol mit etwas Salzsäure ansäuert. Neutralisiert man die alkoholische Lösung vorsichtig mit Ammoniak, so fällt es wieder aus, oder wenn seine Menge sehr gering war, so erhält man es durch Eindampfen der ammoniakalischen Lösung zur Trockne und Behandeln des Rückstandes mit Wasser, wobei es ungelöst zurückbleibt.

Die Verarbeitung der Faeces war folgende: Die gesamten, nach der Verabreichung von Glykocyamin gesammelten Faeces wurden fein zerrieben, mit Alkohol in der Reibschale durchgerieben, einige Zeit mit diesem in Kolben gelind erwärmt, dann filtriert und der Rückstand auf dem Filter wiederholt mit

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 223 (1904).

Alkohol nachgewaschen, sodaß man sicher sein konnte, daß derselbe von allen in Alkohol löslichen Substanzen möglichst vollständig befreit war. Nunmehr wurde der breiige Rückstand in einem Kolben wiederum mit Alkohol unter Zusatz von etwas Salzsäure erwärmt, filtriert. Das Filtrat wurde zur Abscheidung der Erdphosphate mit Ammoniak übersättigt, filtriert, das Filtrat zur Trockne gedampft und dann mit Wasser behandelt, filtriert, ausgewaschen. Zur Identifizierung des Rückstandes, der nur gering war, als Glykocyamin diente die Überführung in Glykocyamidin durch Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure auf dem Wasserbad, nachdem vorher an einer kleinen Quantität Glykocyamin festgestellt war, daß die Überführung auf diesem Wege leicht gelingt.

Die erhaltene kleine Quantität des angeblichen Glykocyamins wurde also mit einigen Kubikzentimetern verdünnter Schwefelsäure ca. 1 Stunde auf dem Wasserbad unter Wasserzusatz erwärmt, nach dem Verdünnen die Schwefelsäure durch Ätzbaryt, schließlich Baryumkarbonat entfernt, filtriert, das Filtrat, das ziemlich voluminös geworden war, auf dem Wasserbad eingedampft, von etwas ausgefallenem Baryumkarbonat abfiltriert, dann auf einige Kubikzentimeter eingedampft und ca.  $\frac{1}{2}$  ccm Alkoholchlorzinklösung hinzugefügt. Nach kurzem Stehen schieden sich körnige harte Kristalle von Glykocyamidinchlorzink aus. Zur Analyse reichte die erhaltene Quantität nicht aus.

Zur Untersuchung des Harns auf Glykocyamin wurde der bei der Untersuchung auf Kreatinin ungelöst bleibende Rückstand benutzt. Dieser Rückstand wurde nochmals mit Alkohol erwärmt, filtriert, das Filtrat beseitigt, der Rückstand auf dem Filter mit Alkohol gewaschen, dann in einen Kolben gebracht, mit Alkohol unter Zusatz von etwas Salzsäure erwärmt, wobei er sich zum größten Teil löste, filtriert, das Filtrat mit Ammoniak versetzt und zur Trockne gedampft, der Rückstand mit Wasser übergossen, nach gutem Durchrühren filtriert, der Rückstand auf dem Filter ausgewaschen, dann in siedendem Wasser gelöst, noch einmal filtriert, die Lösung mit Knochenkohle entfärbt und zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde mit Wasser übergossen, auf einem gewogenen Filter gesammelt

und bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Gewicht betrug 0,267 g.

Als Glykocyamin identifiziert wurde der Rückstand einerseits durch Überführung in Glykocyamidin und Fällung mit Chlorzink, andererseits durch Überführung in die schwer lösliche Kupferverbindung. Zur Darstellung dieser wurde das Glykocyamin in heißem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferacetatlösung versetzt und etwas eingedampft. Beim Erkalten fiel das schwerlösliche Kupfersalz aus, das in seinen äußeren Eigenschaften mit einem in gleicher Weise aus einer kleinen Quantität Glykocyamin dargestellten Präparat vollständig übereinstimmte. Zur Analyse reichte die erhaltene Quantität nicht aus, nach dem Gange der Untersuchung kann aber nicht der mindeste Zweifel bestehen, daß wirklich Glykocyaminkupfer vorlag. — Zieht man in Betracht, daß die Methode sicher ziemlich unvollkommen ist, so wird man sagen können, daß ein nicht ganz unerheblicher Teil des Glykocyamins trotz seiner Schwerlöslichkeit unverändert durch den Harn ausgeschieden ist.

Herrn Prof. E. Salkowski spreche ich meinen ergebenen Dank aus für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine Unterstützung bei Ausführung derselben.