

# Untersuchungen über die Entstehung des Kreatins im Organismus.

Von

**M. Jaffé.**

(Aus dem Laboratorium für medizinische Chemie und experimentelle Pharmakologie  
zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaktion zugegangen am 13. Juli 1906.)

Der naheliegende und bereits von verschiedenen Seiten<sup>1)</sup> ausgesprochene Gedanke, daß bei der Entstehung des Kreatins im Organismus vielleicht ein Methylierungsvorgang mitwirkt, ist kürzlich von Czernecki<sup>2)</sup> experimentell geprüft worden.

Dieser Autor fand bei einem mit Glykocyamin (Guanidin-essigsäure) gefütterten Kaninchen eine Vermehrung der Kreatinin-ausscheidung im Harn, die allerdings einer mehrfachen Deutung fähig war. Der einzige, quantitativ durchgeführte Versuch, der in dieser Richtung angestellt worden ist, konnte die Frage nicht entscheiden, ob tatsächlich eine Anlagerung von Methyl an das Glykocyamin stattfindet.

Czernecki selbst hält dieselbe mindestens für nicht bewiesen. Bereits ca. 2 Jahre vor dem Erscheinen der Czerneckischen Arbeit habe ich von der gleichen Idee ausgehend Fütterungsversuche mit Glykocyamin zuerst an Hunden begonnen, später ausschließlich an Kaninchen fortgesetzt. Der Einfluß auf die Kreatinbildung sollte einerseits durch die Untersuchung der Harnausscheidung, andererseits am Muskel selbst festgestellt werden. Weitere Versuche, die noch nicht zum Abschluß gelangt sind, wurden in der Absicht unternommen, über den modus der Kreatinsynthese, namentlich über die ihr vorausgehenden Zwischenstufen näheren Aufschluß zu gewinnen. Über die Resultate der durch längere Pausen wiederholt unterbrochenen Untersuchung soll in folgendem berichtet werden.

<sup>1)</sup> Hofmeister, Arch. f. experiment. Pathol., Bd. XXXIII (1894).

Kutscher und Otori, Zentralbl. f. Physiol., Nr. 8 (1904).

G. Salomon und C. Neuberg, Festschrift für Salkowski  
u. a. m., 1904.

<sup>2)</sup> W. Czernecki, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV (1905).

## Zur Methode.

Beim Beginn meiner Untersuchungen stand mir eine befriedigende Methode der quantitativen Kreatin- und Kreatininbestimmung im Harn (und den Muskeln) nicht zu Gebote. Das bisher allgemein geübte Neubauer-Salkowskische Verfahren gibt zwar für menschlichen Harn brauchbare Resultate, ist aber für die Untersuchung des Kaninchenharns noch unzuverlässiger, als es für Hundeharn nach E. Salkowski<sup>1)</sup> der Fall ist, ganz abgesehen davon, daß es den Kreatinin-, nicht aber den Kreatingehalt berücksichtigt, der in dem alkalischen Kaninchenurin häufig den ersteren übertrifft.

Die Menge und die Beschaffenheit der sich ausscheidenden Chlorzinkverbindung ist von Zufälligkeiten abhängig, die sich nicht beherrschen lassen.

Ich bediente mich deshalb eines modifizierten Verfahrens für die gleichzeitige Bestimmung des Kreatins und Kreatinins, eines Verfahrens, welches allerdings den Ansprüchen an eine quantitative Methode keineswegs genügt, dessen Benutzung aber zu vergleichbaren Werten führte.

Zahlreiche Versuche über das Verhalten des Glykocyamins waren bereits zum Abschluß gelangt, bevor die sehr vertrauenerweckende Methode von O. Folin<sup>2)</sup> publiziert worden ist. Wenn ich von derselben auch weiterhin keinen Gebrauch gemacht habe, so geschah es hauptsächlich aus dem Grunde, weil sie mir für den speziellen Zweck meiner Untersuchung ohne wesentliche Abänderung nicht geeignet schien. Die kolorimetrische Verwertung der Pikrinsäurereaktion des Kreatinins, auf welcher Folins Methode beruht, mußte fehlerhafte Resultate ergeben, wenn nach Glykocyaminfütterung im Harn Glykocyamidin auftritt, welches mit Pikrinsäure und Natronlauge dieselbe Farbenreaktion gibt, wie Kreatinin. Zwar habe ich präformiertes Glykocyamidin nur ausnahmsweise und dann nur in Spuren im Urin nachweisen können, doch enthielt derselbe in der Regel unverändertes Glykocyamin, welches bei dem Erhitzen des Harns mit

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 296.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLI.

Säuren, wie es für die Kreatininbestimmung notwendig ist, in das Anhydrid übergehen muß.

Immerhin behalte ich mir vor, die bisher nach meinem Verfahren gewonnenen Resultate mittels der zweckentsprechend modifizierten Folinschen Methode zu kontrollieren. Versuche in dieser Richtung sind bereits im Gange.

Statt die einzelnen Tagesmengen des Urins gesondert zu untersuchen, hielt ich es für zweckmäßiger, das gesamte, einer (3—4 tägigen) Versuchsperiode entsprechende Harnquantum für die Bestimmung zu benutzen.

Abgesehen von der nicht unerheblichen Zeitersparnis, glaube ich, daß in dieser Weise die Fehler der Methode in geringerem Grade zur Geltung kommen, die Versuchsergebnisse aber, unbeeinflusst durch die Tagesschwankungen, klarer und bestimmter zum Ausdruck gelangen als sonst. Für die Richtigkeit dieser Voraussetzung sprechen die bei gleichbleibender Ernährung auffallend gleichmäßigen Kreatininwerte in den Vor- und Nachperioden der Versuche.

Der in 24 Stunden gesammelte Harn wird auf dem Wasserbade zum Sirup abgedampft und mit heißem Alkohol erschöpfend extrahiert. Ich habe mich wiederholt überzeugt, daß nicht bloß alles Kreatinin, sondern auch dem Harn zugesetztes reines Kreatin<sup>1)</sup> vollständig in den Alkoholauszug übergeht. Der ungelöst bleibende Rückstand gab niemals, weder für sich noch nach längerem Erhitzen mit verdünnter Salzsäure, die Reaktionen des Kreatinins.

Die einer mehrtägigen Periode entsprechenden Alkoholauszüge werden vereinigt, nach dem Verdunsten des Alkohols in 150 ccm Wasser gelöst und nach Zusatz von 25 ccm officineller reiner Salzsäure 4 Stunden am aufsteigenden Kühler erhitzt. Durch Abdampfen auf dem Wasserbade und wiederholte Erneuerung des verdampfenden Wassers wird die freie Salzsäure entfernt, der Rückstand in Wasser gelöst, mit etwas Tierkohle entfärbt, die letztere gründlich mit kochendem Wasser ausgewaschen, Filtrat und Waschwasser verdunstet. Vor dem völligen Eintrocknen wird etwas essigsaures Natron zugesetzt, der nun-

<sup>1)</sup> Vorausgesetzt, daß die Menge desselben nicht mehr als etwa 0,1 g für 100 ccm Harn beträgt.

mehr bleibende sirupöse Rückstand mit 60—100 ccm Alkohol (je nach dem zu erwartenden Kreatingehalt) heiß extrahiert. Die Hälfte der so gewonnenen, nach völligem Klären filtrierten Lösung dient zur Bestimmung des Kreatinins, welches nach Zusatz von  $\text{ZnCl}_2$  sich in vielen Salzen ohne weiteres als krystallinisches Doppelsalz in den bekannten Formen ausscheidet. Doch ist dies nicht ausnahmslos der Fall; es haften dem Niederschlag des öfteren amorphflockige oder harzartige Beimengungen an; auch ergab die Analyse wiederholt Zinkwerte, die hinter dem berechneten um 2% und darüber zurückblieben. Mitunter wurde, trotz zweifellos beträchtlichem Kreatingehalt, mit  $\text{ZnCl}_2$  nur ein minimaler oder gar kein Niederschlag erhalten.

Ich zog es daher vor, in den meisten Fällen der Chlorzinkfällung eine Behandlung des alkoholischen Auszuges mit Pikrinsäure vorzuschicken, wodurch das Verfahren allerdings sehr viel umständlicher und zeitraubender sich gestaltet. Die Lösung wird mit dem gleichen Volumen gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung versetzt, nach 24stündigem Stehen der Niederschlag abfiltriert, einmal mit alkoholischer Pikrinsäure, dann nochmals mit reinem Alkohol, schließlich mit Äther gewaschen und an der Luft getrocknet. Das Pikrat wird nun in der gewöhnlichen Weise durch Erhitzen mit wässriger Salzsäure zersetzt, die durch Ausschütteln mit Äther von der Pikrinsäure befreite Lösung verdunstet und nach Zusatz von etwas Natriumacetat mit 30—50 ccm heißem Weingeist extrahiert. Das völlig geklärte Filtrat gibt auf Zusatz von 15—20 Tropfen alkoholischer Chlorzinklösung und kräftigem Umrühren sofort eine fast farblose krystallinische Ausscheidung von Chlorzinkkreatinin, die in wenigen Stunden beendet ist und sich auch nach tagelangem Stehen nicht weiter vermehrt.

Der Zinkgehalt dieses Niederschlages kommt dem berechneten Werte sehr nahe.

(Berechnet: 22,4%  $\text{ZnO}$ ; gefunden: 21,4%, 21,24%, 20,64%).

In mehreren Versuchen wurden Parallelbestimmungen des Kreatinins mit und ohne Pikrinsäurebehandlung ausgeführt.

Das Verfahren ist, wie man sieht, ein sehr umständliches. Zur Prüfung seiner Leistungsfähigkeit dienten Kontroll-

bestimmungen an größeren Harnportionen, die zur Hälfte mit gewogenen Mengen von reinem (bei 105°) getrocknetem Kreatin versetzt, zur Hälfte ohne diesen Zusatz verarbeitet wurden:

- |  |  |
|--|--|
| 1. 500 ccm Kaninchenharn + 0,317 g Kr        |  |
| (entspr. 0,437 g KrZnCl <sub>2</sub> ) gaben | 0,393 g KrZnCl <sub>2</sub>                          |
| 500 ccm Kaninchenharn ohne Kr                | 0,092 > >  |
|  | Wiedergefunden: 0,301 g KrZnCl <sub>2</sub> = 68,9%  |
|  |  |
| 2. 700 ccm Urin + 0,338 g Kr                 |  |
| (entspr. 0,466 g KrZnCl <sub>2</sub> ) gaben | 0,509 g KrZnCl <sub>2</sub>                          |
| 700 ccm Urin ohne Kr                         | 0,1816 > >   |
|  | Wiedererhalten: 0,3274 g KrZnCl <sub>2</sub> = 70,2% |
|  |  |
| 3. 400 ccm Urin + 0,2664 g Kr                |  |
| (entspr. 0,367 g KrZnCl <sub>2</sub> ) gaben | 0,3182 g KrZnCl <sub>2</sub>                         |
| 400 ccm Urin ohne Zusatz                     | 0,0448 > >   |
|  | Wiedererhalten: 0,2734 g KrZnCl <sub>2</sub> = 74,3% |

Es werden somit nach dem oben beschriebenen Verfahren annähernd 70% des zugesetzten Kreatins wiedergefunden.<sup>1)</sup> Zur Erklärung des Defizits müssen, abgesehen von den unvermeidlichen kleinen Verlusten beim Abdampfen größerer Flüssigkeitsmengen, bei den wiederholten Filtrationen und dem, wenn auch noch so sorgfältigen Auswaschen der Niederschläge hauptsächlich folgende Momente in Betracht gezogen werden: 1. Die nicht ganz unbedeutende Löslichkeit des Kreatinipikrats in Alkohol. 2. Die entweder nicht vollständige Überführung des Kreatins in Kreatinin oder die teilweise Zerstörung des letzteren beim Kochen mit Salzsäure unter den eingehaltenen Bedingungen.

ad 1. Die Pikrinsäurebehandlung ist an den Ursachen des Gesamtverlustes, wie ich glaube, nur wenig beteiligt. Der durch die Löslichkeit des Pikrats bedingte Fehler wird durch die promptere und vollständigere Ausscheidung der Chlorzinkverbindung und durch die größere Reinheit derselben kompensiert. Bei Vergleichsbestimmungen mit und ohne Pikratfällung fand

<sup>1)</sup> In obigen Versuchen betrug der Kreatinzusatz 0,04—0,06%. Bei wesentlich höherem Kreatingehalt (0,13—0,15%) fand ich in einigen Versuchen nur ca. 60—64% wieder. — Ein so hoher Prozentsatz an Kreatin (neben Kreatinin) dürfte nach Glykocyaminfütterung niemals im Harn erreicht worden sein.

sich ein Plus in der Regel auf Seite der ersteren. Nur wo der Kreatiningehalt des Harns ein sehr geringer war, ergaben die Zahlen das umgekehrte Verhältnis:

Gleiche Volumen des alkoholischen Harnauszuges gaben Chlorzinkkreatinin:

	Mit Pikrinsäure	Ohne Pikrinsäure
1.	0,3104 g	0,2804 g
2.	0,483 »	0,341 »
3.	0,509 »	0,4233 »
4.	0,2423 »	0,225 »
5.	0,2244 »	0,274 »
6.	0,0882 »	0,152 »
7.	0,0255 »	0,049 »

ad 2. Die Umwandlung in Kreatin wurde in folgenden Versuchen mit reinem, bei 105° getrocknetem Kreatin in wässriger Lösung quantitativ verfolgt, wobei die Konzentration der Salzsäure, die Art und Dauer des Erhitzens variiert worden ist. Bei diesen Bestimmungen war die Behandlung mit Pikrinsäure selbstverständlich überflüssig; es wurde daher der Alkoholauszug direkt mit  $\text{ZnCl}_2$  gefällt.

1. 0,4855 g Kr (entspr. 0,670 g  $\text{KrZnCl}_2$ ), mit 120 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 10 ccm reiner offizineller  $\text{ClH}$  12 Stunden im Wasserbade erhitzt, gaben 0,596 g  $\text{KrZnCl}_2 = 89\%$ .

2. 0,4817 g Kr (entspr. 0,664 g  $\text{KrZnCl}_2$ ), mit 150 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 25 ccm  $\text{ClH}$

a) die Hälfte 12 Stunden im Wasserbade erhitzt, gaben 0,2955 g  $\text{KrZnCl}_2 = 89,3\%$ ;

b) die Hälfte 24 Stunden im Wasserbade erhitzt, gaben 0,2785 g  $\text{KrZnCl}_2 = 83,9\%$ .

3. 0,4607 g Kr (= 0,6354 g  $\text{KrZnCl}_2$ ), mit 100 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 20 ccm  $\text{ClH}$  2 Stunden am aufsteigenden Kühler lebhaft gekocht, gaben 0,5166 g  $\text{KrZnCl}_2 = 81,3\%$ .

4. 0,428 g Kr (= 0,590 g  $\text{KrZnCl}_2$ ), mit 100 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 25 ccm  $\text{ClH}$  5 Stunden am aufsteigenden Kühler gekocht, gaben 0,5078 g  $\text{KrZnCl}_2 = 86\%$ .

5. 0,411 g Kr (entspr. 0,564 g  $\text{KrZnCl}_2$ ), mit 100 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 25 ccm  $\text{ClH}$  in verschlossenem Gefäße 8 Stunden lang im  $\text{CaCl}_2$ -Bade bei 110° erhitzt, gaben 0,344 g  $\text{KrZnCl}_2 = 61\%$ .

6 a) 0,2655 g Kr (= 0,366 g  $\text{KrZnCl}_2$ ), mit 100 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 10 ccm  $\text{ClH}$  ohne vorheriges Erhitzen im Wasserbade abgedampft, gaben 0,3164 g  $\text{KrZnCl}_2 = 86,4\%$ .

b) Idem, erst 3 Stunden im Wasserbade erhitzt, dann abgedampft, gaben 0,3454 g  $\text{KrZnCl}_2 = 94,3\%$ .

Bei weiterer Modifikation der Versuchsbedingungen hätte sich wahrscheinlich eine quantitative Umwandlung erreichen lassen, doch habe ich diese Versuche nicht fortgesetzt. Das beste Resultat (94,3%) für reines Kreatin wurde bei mehrstündigem Erhitzen im Wasserbade und einer Säurekonzentration von ca. 2 bis 2,5% ClH erhalten, während bloßes Abdampfen mit gleich verdünnter Säure eine viel geringere Ausbeute (86,4%) lieferte.

Bei stundenlangem Kochen am aufsteigenden Kühler mit konzentrierter Säure (4—5% ClH), ganz besonders aber beim Erhitzen unter Druck (Versuch 5), blieben die gefundenen Werte hinter den berechneten erheblich zurück. Energischere Einwirkung der Salzsäure scheint hiernach zerstörend auf das Kreatinin zu wirken. Wie weit dies auch für den Harn zutrifft, konnte nur durch besondere Versuche entschieden werden. Es war anzunehmen, daß die komplexe Zusammensetzung des Harns, welche der siedenden Säure zahlreiche Angriffspunkte liefert, das Kreatinin vor der zerstörenden Einwirkung derselben schützt. Dies scheint in der Tat bis zu einem gewissen Grade wenigstens der Fall zu sein.

In einem Versuche wurden je 400 ccm desselben Kaninchenharns mit Zusatz von 0,2664 g Kreatin (entspr. 0,367 KrZnCl<sub>2</sub>) verarbeitet, die alkoholischen Extrakte in je 100 ccm Wasser gelöst und mit 20 ccm ClH (von 25%) versetzt. Die eine Portion a) wurde 4 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, die andere b) am aufsteigenden Kühler ebensolange in lebhaftem Kochen erhalten. Aus a) wurden 0,3608 g, aus b) 0,3610 g KrZnCl<sub>2</sub> gewonnen (ohne Abzug des im Harn präformierten Kreatins). In einem anderen Versuche<sup>1)</sup> hat allzulanges fortgesetztes Kochen vermindernd auf den Kreatingehalt gewirkt. Je 500 ccm Harn, mit 0,2069 g Kr (= 0,285 KrZnCl<sub>2</sub>) versetzt, ergaben unter sonst gleichen Bedingungen (100 ccm Extraktlösung + 20 ccm ClH) nach 5 stündigem Kochen am aufsteigen-

<sup>1)</sup> In diesem und dem vorigen Versuche wurde die Pikrinsäurebehandlung umgangen, da ZnCl<sub>2</sub> in dem alkoholischen Auszug eine ganz homogene krystallinische Fällung gab, deren Zinkgehalt (21,42% resp. 20,6%) sich von dem berechneten Werte nicht allzuweit entfernt.

den Kühler 0,2878 g  $\text{KrZnCl}_2$  (ohne Abzug des präformierten Kr), nach 10stündigem Kochen nur 0,2442 g.

### Zur Chemie des Glykocyamins und Glykocyamidins.

Das zu den folgenden Versuchen dienende Glykocyamin wurde nach dem bekannten Verfahren von Nencki und Sieber (Journ. f. prakt. Chem., Bd. CXXVII) aus Guanidincarbonat und Glykokoll dargestellt. Die Methode gibt eine gute Ausbeute und ist in der Ausführung sehr bequem, zumal das lästige Einkochen auf dem Sandbade, welches leicht zu Verlusten durch Verspritzen führt, nach der Beobachtung von Korndörfer (Arch. d. Pharmacie, Bd. CCXLII) durch längeres Erhitzen auf dem Wasserbade ersetzt werden kann.

Das Pikrat des Glykocyamins, welches bisher noch nicht beschrieben wurde, ist in Wasser sehr schwer löslich und krystallisiert in feinen gelben Nadeln, die bei 199 bis 200° (im zugeschmolzenen Röhrchen bei 196°) unter Braunfärbung schmolzen.

Mit  $\text{ZnCl}_2$  gibt Glykocyamin keine Verbindung. Eine alkoholische Lösung von salzsaurem Glykocyamin wird durch  $\text{ZnCl}_2$  nicht gefällt; nach Zusatz von Natr. acet. scheidet sich ein krystallinischer Niederschlag aus, der nach dem Auswaschen mit Alkohol keine Spur von Zink enthält und aus unverändertem Glykocyamin besteht.

Von den Salzen des Glykocyamins wird besonders das Chlorhydrat sehr leicht in schönen großen Krystallen erhalten, die in Wasser wie in Alkohol leicht löslich sind. Ein in farblosen Nadeln und dünnen Prismen krystallisierendes Acetat erhält man beim Erkalten einer heißgesättigten Lösung von Glykocyamin in Eisessig, der mit wenig Wasser verdünnt ist. Die Verbindung ist in kalter konzentrierter Essigsäure nahezu unlöslich, in Wasser leicht löslich, spaltet aber in wässriger Lösung albald die freie Base ab.

Bei der Beobachtung dieses Vorganges unter dem Mikroskop sieht man die prismatischen Kristalle des Acetats allmählich in die zierlichen rhombischen Tafeln des Glykocyamins übergehen, welche den Krystallen der Harnsäure sehr ähnlich sind.

Mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge, sowie mit Pikrinsäure und Natronlauge gibt das Glykocyamin keine charakteristische Reaktion.

Die Überführung des Glykocyamins in Glykocyamidin erfolgt, im Gegensatz zu dem entsprechenden Verhalten des Kreatins, sehr schwierig. Größere Mengen des Anhydrids sind nach den Angaben der Literatur nur durch Schmelzen von salzsaurem Glykocyamin bei 160—170° oder durch 4stündiges Erhitzen desselben mit rauchender Salzsäure im Einschlußrohr auf 130°, in beiden Fällen mit großen Verlusten darzustellen. Für die Umwandlung kleiner Mengen von Glykocyamin genügt, wie ich gefunden habe, lange fortgesetztes Kochen mit verdünnter Salzsäure am aufsteigenden Kühler.

Die Umwandlung erfolgt äußerst langsam, ergibt aber ein sehr reines Produkt. Um die Chlorzinkverbindung zu gewinnen, wird die salzsaure Lösung auf dem Wasserbade (bis zu völliger Entfernung der freien ClH unter wiederholtem Wasserzusatz) zur Trockene verdampft, in Alkohol gelöst und durch Zusatz von etwas essigsaurem Natron zunächst von einem Rest unangegriffenen Glykocyamins befreit; die hiervon abfiltrierte Lösung gibt nunmehr auf Zusatz von alkoholischem Chlorzink einen krystallinischen Niederschlag von Glykocyamidinchlorzink:

Das Doppelsalz krystallisiert in kleinen, schmalen rhombischen Täfelchen, teils einzeln, teils in gekreuzten oder rosettenförmigen Aggregaten. Es sei indes bemerkt, daß die Verbindung aus unreinen Lösungen, z. B. aus Harnextrakten, sich in Form von Kugeln ausscheiden kann, die aus feinen Nadeln zusammengesetzt sind und sich von den entsprechenden Formen des Kreatininchlorzinkes kaum unterscheiden lassen.

Das Salz hat die Zusammensetzung  $(C_3H_5N_3O)_2ZnCl_2$ , wie aus folgenden Zinkbestimmungen hervorgeht:

1. 0,3623 g, bei 105° getrocknet, gaben 0,0715 g ZnO = 24,4%
2. 0,197 » » 105° » » 0,048 » » = 24,36%

Die Formel verlangt: 24,2% ZnO.

Das Glykocyamidin gibt mit Nitroprussidnatrium und einigen Tropfen Natronlauge eine rotgelbe oder rote Färbung, die auf Zusatz von Essigsäure in ein dunkles und sehr be-

ständiges Burgunderrot übergeht. Durch diese mir seit längerer Zeit bekannte, inzwischen auch von Korndörfer (a. a. O.) beschriebene Reaktion läßt sich das Glykocyamidin leicht von dem ihm sonst so ähnlichen Kreatinin unterscheiden und neben demselben scharf erkennen, auch wenn es nur in geringer Menge beigemischt ist.

Gegen wässrige Pikrinsäure und Natronlauge verhält sich die Verbindung genau wie Kreatinin: Rotfärbung, die beim Stehen an Intensität zunimmt.

Das Pikrat des Glykocyamidins ist in Wasser und Alkohol schwer löslich und krystallisiert in gelben Nadeln, die bei  $210^{\circ}$  (im zugeschmolzenen Röhrchen bei  $206^{\circ}$ ) schmelzen.

Nachweis des Glykocyamins im Harn und im Kot.

Bei der Fütterung von Kaninchen mit Glykocyamin geht ein Teil desselben unverändert in den Harn über, bei subkutaner Injektion in ziemlich erheblicher, bei Darreichung per os in geringerer Menge. Die Verbindung findet sich — anscheinend vollständig — in dem bei der Herstellung des alkoholischen Harnauszuges ungelöst bleibenden Rückstand und wird aus demselben folgendermaßen isoliert: Der mit Alkohol gut ausgewaschene und getrocknete Rückstand wird mit Wasser ausgekocht, die tief braun gefärbte, alkalisch reagierende Lösung mit Essigsäure schwach angesäuert. Bei längerem Stehen in der Kälte scheidet sich gewöhnlich ein Teil des Glykocyamins krystallinisch aus. Aus der abfiltrierten Mutterlauge wird der Rest gewonnen, indem dieselbe mit etwas Wasser verdünnt und mit Bleiessig bis nahe zur Entfärbung gefällt wird. Aus dem Filtrat des Bleiniederschlages erhält man nach Einleiten von  $H_2S$  und Einengen auf dem Wasserbade eine zweite, eventuell auch noch eine dritte Krystallisation. Das Glykocyamin läßt sich in dieser Weise fast quantitativ abscheiden,<sup>1)</sup> wird durch Umkrystallisieren aus heißer konzentrierter Essigsäure gereinigt und

<sup>1)</sup> Von 0,72 g Glykocyamidin, welches 350 ccm normalem Kaninchenharn zugesetzt worden waren, wurden auf diese Weise 0,5 g reine Substanz zurückerhalten; die Mutterlauge enthielt noch etwas Glykocyamin und, wie die Nitroprussidreaktion zeigte, auch eine kleine Menge Cyamidin, welche bei dem Eindampfen der essigsäuren Lösung sich gebildet hatte.

ist in einigen Fällen durch Überführung in das Cyamidin und Bestimmung des Zinkgehaltes identifiziert worden.

Die Untersuchung des Darminhalts auf nicht resorbierte Glykocyaminreste geschah nach folgendem Verfahren, welches auf der Löslichkeit des Glykocyamins in salzsäurehaltigem Alkohol beruht.

Die während der Fütterungsperiode gesammelten Faeces wurden getrocknet und zunächst mit reinem, dann mit salzsäurehaltigem Alkohol ausgekocht, die salzsaure Lösung zur Trockene verdampft, mit Wasser aufgenommen und filtriert. Das noch sehr dunkle Filtrat wurde nach teilweiser Entfärbung mittels Tierkohle auf ein kleines Volumen eingeengt und mit essigsaurem Natron versetzt. Vorhandenes Cyamin mußte nunmehr zur Ausscheidung gelangen. Zur Sicherheit wurde auch der erste mit reinem Alkohol hergestellte Extrakt in derselben Weise verarbeitet. Die Untersuchung des Darminhaltes ist nur in einem Falle (Versuch 8), in welchem das Tier im Laufe von 3 Tagen 9 g salzsaures Glykocyamin per os erhalten hatte, ausgeführt worden und ergab ein negatives Resultat — die dargereichte Substanz war also vollständig zur Resorption gelangt. Eine teilweise Zerstörung im Darminhalt ist allerdings nicht ausgeschlossen.

#### Kreatininausscheidung durch den Harn nach Darreichung von Glykocyamin.

Das Glykocyamin wurde den Versuchstieren teils als solches (in warmem Wasser suspendiert) oder in Form leicht löslicher Salze per os eingeführt. In mehreren Versuchen wurden das Chlorhydrat und das Acetat subkutan appliziert. Bei der innerlichen Darreichung größerer Dosen (namentlich der Salze) traten vorübergehend breiige Stuhlentleerungen und etwas verminderte Freßlust, sonst keinerlei Störungen des Befindens auf. Nach der subkutanen Injektion des salzsauren Salzes zeigten die Tiere ebenfalls keine schwereren Krankheitssymptome, vorausgesetzt, daß die stark saure Lösung vor der Injektion mit kohlen-saurem Natron nahezu neutralisiert wurde. Nur in einem Falle (Versuch 9), wo die Neutralisation unterblieb, erschien das Befinden

am Tage der Einspritzung und am folgenden in stärkerem Grade beeinträchtigt, die Nahrungsaufnahme sehr gering.

### 1. Versuch.

Gewicht des Kaninchens: 2697 g. Hafer und Grünzeug. 6 g Glykocyamin per os (in Einzeldosen von 1 g, 2mal täglich).

Periode	Zahl der Tage	Gewicht g	Kreatininchlorzink	
			im ganzen g	pro Tag g
Vorperiode	4	2697	0,388	0,0970
Versuchsperiode	5	2523	<b>0,6606</b>	<b>0,1320</b>
Nachperiode	5	2595	0,5304	0,1060

### 2. Versuch.

Gewicht des Kaninchens: 2566 g. Hafer und Wruken. 6 g salzsaures Glykocyamin per os (in Einzeldosen à 1,0 auf 3 Tage verteilt).

Am Tage nach der letzten Darreichung wurde ein prolapsus vesicae bemerkt: Urin stark blutig, wird fortgegossen. 8 Tage später, nachdem der prolapsus (operativ) geheilt und das Tier völlig erholt war, wurde der Urin (Nachperiode) bei gleicher Nahrung wieder gesammelt.

Periode	Zahl der Tage	Gewicht g	Kreatininchlorzink	
			im ganzen g	pro Tag g
Vorperiode	4	2566	0,2828	0,0707
Versuchsperiode	3	2525	<b>0,3468</b>	<b>0,1156</b>
Nachperiode	5	2525	0,3354	0,067

### 3. Versuch.

Gewicht des Kaninchens nicht notiert. Hafer und Grünzeug. 0,8 g essigsäures Glykocyamin an einem Tage in 2 Dosen subkutan.

Periode	Zahl der Tage	Gewicht g	Kreatininchlorzink	
			im ganzen g	pro Tag g
Vorperiode	5	?	0,2518	0,0503
Versuchsperiode	2	?	0,2004	<b>0,1002</b>
Nachperiode	4	?	0,1540	0,0385

## 4. Versuch.

Gewicht des Kaninchens: 2877 g.  $5\frac{1}{2}$  g salzsaures Glykococamin subkutan (in Einzeldosen à 0,5 g auf 3 Tage verteilt).

Periode	Zahl der Tage	Gewicht g	Kreatininchlorzink		Bemerkungen
			im ganzen g	pro Tag g	
Vorperiode	4	2877	0,316	0,079	1) Die Zn-Bestimmung ergibt 21,8% ZnO (verl. 22,4%)
Versuchsperiode	4	2790	<b>0,7526</b> 1)	<b>0,1881</b>	
Nachperiode	4	2623	0,3728	0,0932	

## 5. Versuch.

Großes gelbes Kaninchen. Gewicht: 3180 g. Futter: 300 g Mohrrüben,  $11\frac{1}{2}$  g salzsaures Glykococamin per os (auf  $2\frac{1}{2}$  Tage verteilt in Einzeldosen von 1,5 g). Nur eine Dosis wurde subkutan injiziert, darauf war das Tier einige Zeit matt und fraß wenig; sonst während der ganzen Versuchsdauer normales Befinden und guter Appetit.

Periode	Zahl der Tage	Gewicht g	Kreatininchlorzink		Bemerkungen
			im ganzen g	pro Tag g	
Vorperiode	4	3180	0,4934	0,1233	1) ZnO = 21,9% (verl. 22,4%) Aus dem Harn der Versuchsperiode wiedergewonnen: 1,5 g reines Glykococamin
Versuchsperiode	4	2790	<b>1,382</b> 1)	<b>0,4455</b>	
Nachperiode	4	2850	<b>1,0184</b>	<b>0,2546</b>	

In diesem Versuche war die Nahrungsmenge (300 g Mohrrüben) offenbar unzureichend; das Tier nahm deshalb in der Vorperiode ca. 400 g ab. In den 4 Tagen der Versuchsperiode fand dagegen eine Gewichtszunahme um 90 g statt.

Der Versuch lehrt ferner, daß die Vermehrung der Kreatininausscheidung noch mehrere Tage nach beendigter Glykococamin-darreichung, sogar in erhöhtem Maße, fortbestehen kann. In den folgenden Versuchen wurde deshalb die Beobachtungsdauer verlängert und zugleich für ausreichende Ernährung Sorge getragen.

## 6. Versuch.

Schwarzes Kaninchen von 1850 g Gewicht. Futter: 400 g Mohrrüben täglich. 8 g salzsaures Glykocyamin per os (in Einzeldosen von 1 g.)

Datum	Periode	Gewicht g	Salzsaures Glykocyamin per os g	Harnmenge ccm	Kreatininchlorzink g	Bemerkungen
19. 11.	Vorperiode	1850	0	340	0,2098	
20. 11.			0	280		
21. 11.			0	250		
22. 11.			0	310		
23. 11.	Versuchsperiode	1882	2	435	0,5988 <sup>1)</sup>	<sup>1)</sup> ZnO = 19,7%. Vorübergehend breiige Stuhlentleerung. Freßlust unvermindert. Aus dem Harn wiedergewonnen: 0,4 g Glykocyamin.
24. 11.			3	375		
25. 11.			3	305		
26. 11.			0	280		
27. 11.	Nachperiode I	1750	0	307	0,4946 <sup>1)</sup>	<sup>1)</sup> ZnO = 21,4%.
28. 11.			0	305		
29. 11.			0	215		
30. 11.			0	310		
1. 12.	Nachperiode II	1840	0	325	0,2576	
2. 12.			0	260		
3. 12.			0	272		
4. 12.			0	265		

Anfangsgewicht: 1850 g

Schlußgewicht: 1935 »

## 7. Versuch.

Graues Kaninchen. Gewicht 1638 g. Futter: 400 g Mohrrüben täglich,  
8 g salzsaures Glykocyanin per os (in Einzeldosen von 1 g).

Datum	Periode	Gewicht g	Salzsaures Glykocyanin per os g	Harnmenge ccm	Kreatininchlorzink g	Bemerkungen
19. 11.	Vor- periode	1638	0	305	0,2202	
20. 11.			0	355		
21. 11.			0	335		
22. 11.			0	390		
23. 11.	Ver- suchs- periode	1760	2	465	0,4468 <sup>1)</sup>	<sup>1)</sup> Zn = 20,6 % Vorübergehend breiige Stuhlentleerung. Un- verminderte Freß- lust. Aus dem Harn wiedergewonnen 0,9 g Glykocyanin.
24. 11.			3	410		
25. 11.			3	410		
26. 11.			0	300		
27. 11.	Nach- periode I	1705	0	280	0,4884 <sup>1)</sup>	<sup>1)</sup> ZnO = 21,2 %.
28. 11.			0	295		
29. 11.			0	255		
30. 11.			0	350		
1. 12.	Nach- periode II	1806	0	320	0,2408	
2. 12.			0	290		
3. 12.			0	310		
4. 12.			0	360		

Anfangsgewicht 1638 g

Schlußgewicht 1810 g

## 8. Versuch.

Graues Kaninchen. Gewicht 2178 g. Futter: 400 g Mohrrüben, 9 g salzsaures Glykocyamin per os (in Einzeldosen von 1 g).

Datum	Periode	Gewicht g	Salzsaures Glykocyamin per os g	Harnmenge ccm	Kreatin chlorzink g	Bemerkungen
14. 1.	Vor- periode	2178	0	270	0,3420 <sup>1)</sup>	1) ZnO = 20,64 %.
15. 1.			0	286		
16. 1.			0	312		
17. 1.			0	338		
18. 1.	Ver- suchs- periode	2135	3	378	0,6170 <sup>1)</sup>	1) ZnO = 19,8 %. Der Chlorzinkniederschlag enthielt einzelne ClNa-Krystalle. Am 1. Tage vorübergehend breiiger Stuhl, sonst keinerlei Störungen.
19. 1.			3	360		
20. 1.			3	358		
21. 1.			0	290		
22. 1.	Nach- periode I	2120	0	290	0,4366 <sup>1)</sup>	1) ZnO = 21,07 %.
23. 1.			0	272		
24. 1.			0	306		
25. 1.			0	296		
26. 1.	Nach- periode II	2113	0	266	0,2926 <sup>1)</sup>	1) ZnO = 20,64 %.
27. 1.			0	305		
28. 1.			0	292		
29. 1.			0	320		

Anfangsgewicht 2178 g

Schlußgewicht 2108 »

Aus dem Harn wiedergewonnen: Versuchsperiode 0,82 g Glykocyamin

» » » » » Nachperiode 0 » »

Der während der Versuchsperiode gesammelte Kot enthielt kein Glykocyamin.

## 9. Versuch.

Graues Kaninchen. Gewicht 2526 g. Futter: 500 g Mohrrüben täglich,  
9 g salzsaures Glykocyamin subkutan (in Einzeldosen von 1 g).

Datum	Periode	Ge- wicht g	Salz- saures Glyko- cya- min sub- kutan g	Harn- menge ccm	Krea- tinin- chlor- zink g	Bemerkungen
11. 2.	Vor- periode	2526	0	382	0,4020 <sup>1)</sup>	<sup>1)</sup> ZnO = 21,24 %.
12. 2.			0	355		
13. 2.			0	405		
14. 2.			0	365		
15. 2.	Ver- suchs- periode	2440	3	250	1,2384 <sup>1)</sup>	<sup>1)</sup> ZnO = 21,61 %. Sehr geringe Nahrungs- aufnahme, Stuhlent- leerung normal. Aus dem Harn wieder gewonnen: 2,7 g Gly- kocyamin.
16. 2.			3	134		
17. 2.			3	132		
18. 2.			0	230		
19. 2.	Nach- periode I	2630	0	486	0,4976	Normales Befinden, frisst mit Gier.
20. 2.			0	410		
21. 2.			0	405		
22. 2.			0	445		
23. 2.	Nach- periode II	2470	0	430	0,4284	
24. 2.			0	412		
25. 2.			0	405		
26. 2.			0	440		

Anfangsgewicht 2526 g  
Schlußgewicht 2554 »

## 10. Versuch.

Kaninchen von 2268 g. Futter: 500 g Mohrrüben täglich, 8 g Glykocyanin per os (in Einzeldosen von 1 g).

Datum	Periode	Ge- wicht g	Glyko- cya- min per os g	Harn- menge ccm	Kreatinin- chlorzink g	Bemerkungen
4. 9.	Vor- periode	2268	0	420	0,2406	
5. 9.			0	405		
6. 9.			0	435		
7. 9.			0	420		
8. 9.	Ver- suchs- periode	2258	3	495	0,7298	Aus dem Harn wieder- gewonnen 0,6 g Glyko- cyanin.
9. 9.			3	605		
10. 9.			2	510		
11. 9.			0	505		
12. 9.	Nach- periode I	2278	0	310	0,6330	
13. 9.			0	435		
14. 9.			0	432		
15. 9.			0	300		
16. 9.	Nach- periode II	2278	0	300	0,3368	
17. 9.			0	285		
18. 9.			0	330		
19. 9.			0	315		

Die vorstehend mitgeteilten Versuche,<sup>1)</sup> denen sich noch die später anzuführenden Versuche mit gleichzeitiger Kreatinbestimmung in Muskeln und Harn hinzugesellen, ergaben ausnahmslos ein positives Resultat im Sinne einer Kreatinvermehrung. Bei ihrer großen Anzahl und unter Berücksichtigung der sehr gleichmäßigen Kreatininausscheidung in den Vor- und Nachperioden, sowie in den Kontroll- und Argininversuchen (s. u.)

<sup>1)</sup> Tabellarische Zusammenstellung sämtlicher Versuche s. S. 455.

berechtigten sie trotz der Mängel der quantitativen Bestimmungsmethode zu dem Schlusse, daß das Glykocyamin im Organismus des Kaninchens teilweise in Kreatin übergeht. Die Zunahme ist in einigen Fällen nur eine geringe, wenige Prozent des Ausgangsmaterials betragend, in anderen aber verhältnismäßig beträchtlich. In Versuch 10 wurden 8 g des Chlorhydrats verfüttert, entspr. 6,1 g Glykocyamin. Aus dem Harn wurde 0,6 g reiner Substanz wiedergewonnen. Es gelangten somit zur Resorption<sup>1)</sup> 5,5 g Glykocyamin, entspr. 6,1 g Kreatin = 8,3 g Kreatininchlorzink.

An 8 unter dem Einfluß der Fütterung stehenden Tagen wurden zusammen 1,3628 g, an 8 Normaltagen 0,5774 g Kreatininchlorzink ausgeschieden; demnach betrug die Mehrausscheidung **0,7854 g** = 9,5% des resorbierten Glykocyamins.

In Versuch 9 wurden 9 g Chlorhydrat subkutan injiziert, entspr. 6,8 g Glykocyamin; aus dem Harn wiedergewonnen 2,7 g, demnach resorbiert 4,1 g Glykocyamin, entspr. 4,6 g Kreatin = 6,3 g Kreatininchlorzink. An 8 Versuchstagen wurden zusammen 1,7360 g, an 8 Normaltagen 0,8304 g Kreatininchlorzink ausgeschieden; demnach betrug die Zunahme 0,9056 g = 14,3% des Ausgangsmaterials.

Für die Versuche 6, 7, 8 ergibt die gleiche Berechnung eine Umwandlung von 7,1%, 6,4% und 4,5% des resorbierten Glykocyamins; für Versuch 5 12,7%.

Diese Zahlen bedürfen noch einer Korrektur, da die von mir benutzte Bestimmungsmethode nur ca. 70% des Kreatingehalts ergibt; auch hiervon abgesehen, ist der tatsächliche Umfang des Methylierungsvorgangs wahrscheinlich größer, als es sich aus der Kreatininbestimmung berechnen läßt, da das Kreatin der Muskeln nach älteren, wie neueren Beobachtungen nicht vollständig zur Ausscheidung gelangt, sondern teilweise im Organismus in andere Verbindungen (Harnstoff?) übergeht.

Es sind nun einige Einwände zu beseitigen, welche gegen die Beweiskraft meiner Versuche erhoben werden könnten, in erster Reihe Bedenken, welche sich auf die Zusammensetzung

<sup>1)</sup> Wie die Untersuchung des Darminhalts in Versuch 9 zeigte, wird das salzsaure Glykocyamin im Darmkanal vollständig resorbiert.

der Chlorzinkpräzipitate beziehen. Es fragt sich, ob die Vermehrung der Kreatininausscheidung nicht eine scheinbare ist und durch anderweitige Bestandteile der Niederschläge vorgetäuscht wird, vor allem durch Beimengungen von Glykocyamin oder von Glykocyamidinchlorzink, welches der Zinkverbindung des Kreatinins außerordentlich ähnlich ist.

Glykocyamin geht zwar mit  $ZnCl_2$  keine chemische Verbindung ein, könnte aber den Niederschlägen mechanisch anhaften und was das Glykocyamidin betrifft, so ließ es sich zwar in dem frischen Urin durch die Nitroprussidreaktion niemals nachweisen, müßte aber bei der Salzsäurebehandlung des Harns aus Glykocyamin entstehen, vorausgesetzt, daß diese in reinem Alkohol ganz unlösliche Verbindung — wenn auch nur in geringer Menge — in den alkoholischen Harnextrakt übergeht. Daß weder die eine, noch die andere Substanz in den Niederschlägen enthalten, resp. das Gewicht derselben merkbar beeinflußt, wird zunächst durch die Resultate der wiederholt vorgenommenen Zinkbestimmung wahrscheinlich gemacht, welche in mehreren Fällen Werte ergab, die denen des Kreatininchlorzinks sehr nahe kommen.

(Gefunden: 21,8, 21,9, 21,6%  $ZnO$ ; verl. 22,4%.)

In einigen Versuchen blieb allerdings der gefundene Zinkgehalt um ca. 2% hinter dem theoretischen resp. um ca. 1% hinter den an den Normaltagen erhaltenen Werten zurück. Durch welche Beimengungen dieses Defizit veranlaßt war, konnte ich nicht ermitteln, doch handelte es sich jedenfalls nicht um die Zinkverbindung des Glykocyamidins (entspr. 24,3  $ZnO$ ), deren Anwesenheit im Gegenteil den Zinkgehalt hätte erhöhen müssen. Die Menge dieser unbekanntes Verunreinigungen betrug übrigens, wie die Rechnung ergab, nur einen ganz geringen Bruchteil der Gesamtquantität des Niederschlags und war in keinem Falle ausreichend, das Resultat der Kreatininbestimmung in Frage zu stellen. Ich habe es niemals versäumt, das gewogene Produkt auf Beimengungen von Glykocyamin oder seinem Anhydrid direkt zu prüfen, in dem ich dasselbe in heißem Wasser löste, durch Kochen mit kohlen-saurem Natron vom Zink befreite und das mit Essigsäure angesäuerte Filtrat auf ein kleines Volumen ein-

engte. Etwa vorhandenes Glykocyamin mußte sich dann in Krystallen ausscheiden, während über die Anwesenheit von Glykocyamidin durch die charakteristische und sehr empfindliche Nitroprussidreaktion Aufschluß zu erhalten war. Das Resultat der Prüfung war stets ein negatives. Um jeden Zweifel auszuschließen, wurde eine größere Quantität der aus zahlreichen Versuchen gesammelten Chlorzinkniederschläge (aus Normal- und Versuchsperioden gemischt), im ganzen 13,5 g der gleichen Behandlung unterworfen. Beim Eindampfen der von Zn befreiten und mit Essigsäure angesäuerten Lösung schieden sich zunächst ca. 1,5 g reines Kreatin aus (durch Erhitzen in der alkalischen Lösung aus Kreatinin regeneriert, durch seine Krystallform und Krystallwasserbestimmung identifiziert), das Filtrat wurde auf ein kleines Volumen eingeeengt, nach längerem Stehen in der Kälte, wobei sich nichts ausschied, mit Alkohol versetzt und nach Entfernung der ausgeschiedenen Salze und eines Restes von Kreatin mit alkoholischer Pikrinsäure gefällt. Der voluminöse Niederschlag (ca. 8 g) zeigte nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser den Schmelzpunkt des Kreatininpikrats (215°). Das aus ihm in bekannter Weise dargestellte Zinkdoppelsalz erwies sich als reines Kreatininchlorzink (gef. 22,4% ZnO). Die gesuchten Beimengungen des Kreatinins müßten sich in dem ersten Filtrate der Pikrinsäurefällung sowie in der Mutterlauge des umkrystallisierten Pikrats finden. Die Flüssigkeiten wurden vereinigt und aus ihnen — nach Entfernung der Pikrinsäure — ebenfalls ein Zinksalz gewonnen, dessen Zinkgehalt nur 20% ZnO betrug. Dasselbe wurde auf die Gegenwart von Glykocyamin und Glykocyamidin in der oben beschriebenen Weise geprüft: Es schied sich eine geringe Menge (ca. 0,05 g) einer in Wasser sehr schwer löslichen krystallinischen Verbindung aus, welche nach dem Erhitzen mit  $\text{ClH}$  die Reaktionen des Glykocyamidins zeigt.

Hiernach ist, wie ich glaube, der Beweis geliefert, daß das in den Organismus eingeführte Glykocyamin oder sein Anhydrid höchstens in minimalen Spuren in die Chlorzinkfällung übergeht.

Ein anderer Einwand gegen die Schlußfolgerung, welche ich aus meinen Versuchen ziehe, ließ sich aus der in einzelnen Fällen beobachteten Gewichtsabnahme der Tiere ableiten. Die-

selbe könnte den Verdacht erwecken, daß die Ursache der Kreatinvermehrung nicht in direkter Umwandlung des Glykocyamins, sondern in gesteigertem Zerfall von Gewebseiweiß zu suchen ist. Aufmerksame Betrachtung der Versuchsprotokolle ergibt indes, daß dieser Einwand unbegründet ist. Ein Gewichtsverlust während der Versuchsdauer trat nur ausnahmsweise ein, war meist unerheblich und erreichte nur einmal, in der Vorperiode des fünften Versuches, die Höhe von 13% des Anfangsgewichtes; zweifellos infolge unzureichender Ernährung. Auch sonst fiel die Gewichtsabnahme, aus dem gleichen Grunde, vorwiegend in die Normalperiode, also in die Zeit der niedrigsten Kreatininwerte; wenn sie, was seltener und nur in geringerem Maße der Fall war, in der Periode der Glykocyamindarreicherung bemerkt wurde, war sie durch die verminderte Freßlust der Tiere und vorübergehende Neigung zur Diarrhöe erklärt. Ein Grund für die Annahme eines vermehrten Gewebszerfalls war nicht vorhanden, da die Nahrungsaufnahme wohl öfter vermindert, aber niemals aufgehoben war und sonstige Anzeichen einer intensiveren Stoffwechselstörung nie beobachtet worden sind.

Daß unzureichende Nahrung die Kreatininausscheidung im Harn nicht wesentlich beeinflußt, ist neuerdings durch die sorgfältigen Untersuchungen von van Hoogenhuyze und Verploegh<sup>1)</sup> für den Menschen bewiesen worden. Im Hungerzustande sinkt die Kreatininmenge, wie diese Autoren übereinstimmend mit früheren Untersuchern gefunden haben, von Tag zu Tag und wird nur durch angestrengte Muskeltätigkeit (die bei Nahrungszufuhr ohne Einfluß ist) vorübergehend vermehrt. Über die Kreatininausscheidung bei hungernden Kaninchen liegen noch keine genaueren Untersuchungen vor; bei zwei Tieren, die allerdings durch frühere Versuche heruntergekommen waren, bemerkte ich schon am zweiten, resp. dritten Tage der Inanition eine beträchtliche Zunahme des Kreatins.

Da die Kreatininvermehrung nach Fütterung mit Glykocyamin ausnahmslos in allen meinen Versuchen konstatiert wurde, ganz besonders auch in denjenigen Versuchen — ihre

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 425 ff.

Zahl war die überwiegende —, in denen das Befinden der Tiere während der Versuchsdauer ungetrübt blieb und das Körpergewicht sich nahezu konstant erhielt oder eine stetige Zunahme zeigte, so hielt ich es für überflüssig, zur Sicherung des Resultates die Größe des Eiweißumsatzes in jedem Falle zahlenmäßig festzustellen. Bestimmungen dieser Art wären übrigens unter den obwaltenden komplizierten Verhältnissen (Ausscheidung wechselnder Mengen von unverändertem Glykocyamin, sowie unbekannter N-haltiger Derivate) großen Schwierigkeiten begegnet. Czernecki<sup>1)</sup> hat in seinem Glykocyaminversuche eine Zunahme der N-Ausscheidung im Harn gefunden, welche der Rechnung nach dem N-Gehalt von 62,5% des verfütterten Glykocyamins entsprach. Ob ein so bedeutender Anteil tatsächlich im Harn zur Ausscheidung gelangte, konnte nicht bewiesen werden; so viel aber ist sicher, daß das gefundene Plus von N zu einem erheblichen Teile durch die Ausscheidungsprodukte des resorbierten Glykocyamins gedeckt wird und daß der Eiweißzerfall im Körper, wenn überhaupt, jedenfalls keine wesentliche Steigerung erfahren haben kann. In einem anderen, allerdings nicht einwandfreien Versuche Czerneckis, auf welchen ich noch zurückkommen werde, war nach Einführung von Glykocyamidin in den Magen das Kreatinin im Harn nicht allein nicht vermehrt, sondern bis auf Spuren verschwunden, obgleich in diesem Falle die Eiweißzersetzung beträchtlich gesteigert war.

---

Meine Auffassung von dem Verhalten des Glykocyamins im Organismus des Kaninchens steht im Widerspruch zu der von Czernecki in seiner oben zitierten Arbeit vertretenen. Zwar konstatierte dieser Autor in einem Fütterungsversuche mit Glykocyamin gleichfalls eine Vermehrung des Kreatininchloridzinkniederschlags, die sogar recht beträchtlich war und mehrere Tage anhielt, doch ist er nicht geneigt, dieselbe auf eine direkte Umwandlung in Kreatin zu beziehen, und zwar wesentlich aus dem Grunde, weil die Weylsche Reaktion in dem frischen

<sup>1)</sup> l. c. S. 302.

Harn der Versuchstiere nicht intensiver erschien als vorher. Dieses Argument kann indes wohl nicht als stichhaltig gelten, da die subjektive Schätzung einer Farbenreaktion, zumal in stark verdünntem Harn (Czerneckis Kaninchen entleerte an 2 Tagen 900—1000 ccm Urin) eine Täuschung nicht ausschließt.

Überdies hat Czernecki die Möglichkeit nicht berücksichtigt, daß vielleicht ein Teil des neugebildeten Kreatins als solches im Harn aufgetreten und erst bei der weiteren Verarbeitung desselben in Kreatinin übergegangen ist.

Für die auch von Czernecki ins Auge gefaßte Möglichkeit, daß die scheinbare Kreatininvermehrung vielleicht auf Beimengung von Glykocyamidinchlorzink beruht, konnte kein experimenteller Beweis beigebracht werden. In meinen Versuchen (s. oben) wurde dieser naheliegende Einwand mit Sicherheit widerlegt. Es liegt daher meiner Meinung nach kein Grund vor, den wichtigen Versuch Czerneckis nicht in positivem Sinne zu deuten; ich sehe in seinem nach einer von der meinigen abweichenden Bestimmungsmethode erhaltenen Resultate vielmehr eine willkommene Bestätigung meiner eigenen Auffassung.

Sehr auffällig und unverständlich erscheint es mir, daß Czernecki nach Darreichung von Glykocyamidin (im ganzen 4 g des salzsauren Salzes auf 2 Tage verteilt) kaum Spuren einer Chlorzinkverbindung aus dem Harn isolieren konnte. Der Verdacht liegt nahe, daß in diesem Falle Kreatin in überwiegender Menge als solches ausgeschieden worden und der Beobachtung entgangen ist. Ich habe jedenfalls bei Wiederholung des Versuches ein wesentlich anderes Resultat erhalten. — Nach subkutaner Injektion von salzsaurem Glykocyamidin (Czernecki bediente sich allerdings der Einführung per os) konnten aus dem Urin sehr beträchtliche Mengen eines krystallinischen Chlorzinkniederschlages dargestellt werden. Gegenüber der Vorperiode war er um das 4fache vermehrt. Der Niederschlag erschien unter dem Mikroskop durchaus homogen und bestand durchweg aus radiär gestreiften Kugeln, die denen des Chlorzinkkreatinins gleichen und nur durch ihre bedeutendere Größe

sich von den Formen unterscheiden, in welchen das letztere aus Kaninchenharn bei meiner Darstellungsweise gewöhnlich erhalten wird. Trotz des homogenen Aussehens lag sicherlich ein Gemenge von Zinkverbindungen vor, in welchem, worauf schon der hohe Zinkgehalt (22,5% ZnO) hinwies, die des Glykocyamidins reichlich vertreten war. — In der Tat konnte das letztere mittelst der oben beschriebenen Reaktion sowohl in dem Niederschlage, wie in dem frisch entleerten Urin mit Sicherheit nachgewiesen werden. Immerhin war sehr wahrscheinlich auch die Kreatininausscheidung beträchtlich vermehrt, da der gefundene Zinkwert hinter dem des reinen Chlorzinkglykocyamidins noch weit zurückbleibt (gefunden: 22,5% ZnO, verl.: 24,2%). — Eine Trennung der beiden Verbindungen, die in ihrem Verhalten so ähnlich sind, ist zur Zeit unmöglich.

### Versuch.

Graues Kaninchen. Gewicht 1806 g Mohrrüben. 6 g salzsaures Glykocyamidin im Laufe von 2 Tagen in 6 Dosen subkutan. Das Tier bekommt etwas Durchfall, macht sonst keinen kranken Eindruck.

Datum	Periode	salzsaures Glyko- cyamidin g	Urin- menge ccm	Chlorzink- nieder- schlag g	Bemerkungen
1. 12.	Vor- periode	0	320	0,2408	
2. 12.		0	290		
3. 12.		0	310		
4. 12.		0	360		
5. 12.	Ver- suchs- periode	3	485	0,9950 <sup>1)</sup>	<sup>1)</sup> ZnO = 22,5 %.
6. 12.		3	305		
7. 12.		0	275		
8. 12.		0	355		

Anfangsgewicht 1806 g

Endgewicht 1810 »

Tabellarische  
Zusammenstellung aller Glykocyaminversuche.

Ver- suchs- Nr.	Glykocyamin in g		Periode	Zahl der Tage	Kreatininchlor- zink		Glyko- cyamin aus dem Harn zurück- gewon- nen g	Kreatin- zu- wachs in Pro- zent des Aus- gangs- mate- rials
	per os	sub- kutan			im ganzen g	pro Tag g		
1	6	—	Vor-	4	0,388	0,0970	—	—
			Versuchs-	5	<b>0,6606</b>	<b>0,1320</b>		
			Nach-	5	0,5304	0,1060		
2	6 salz- saures	—	Vor-	4	0,2828	0,0707	—	—
			Versuchs-	3	<b>0,3468</b>	<b>0,1156</b>		
			Nach-	5	0,3354	0,067		
3	—	0,8 essig- saures	Vor-	5	0,2518	0,0503	—	—
			Versuchs-	2	<b>0,2004</b>	<b>0,1002</b>		
			Nach-	4	0,1540	0,0384		
4	—	5½ salz- saures	Vor-	4	0,316	0,079	—	—
			Versuchs-	4	<b>0,7526</b>	<b>0,1881</b>		
			Nach-	4	0,3728	0,0932		
5	11½ salz- saures	—	Vor-	4	0,4934	0,1233	1,5	12,7
			Versuchs-	4	<b>1,382</b>	<b>0,3455</b>		
			Nach-	4	<b>1,0184</b>	<b>0,2546</b>		
6	8 salz- saures	—	Vor-	4	0,2098	—	0,4	7,1
			Versuchs-	4	<b>0,5988</b>	—		
			1. Nach-	4	<b>0,4946</b>	—		
			2. Nach-	4	0,2576	—		
7	8 salz- saures	—	Vor-	4	0,2202	—	0,9	6,4
			Versuchs-	4	<b>0,4468</b>	—		
			1. Nach-	4	<b>0,4884</b>	—		
			2. Nach-	4	0,2408	—		
8	9 salz- saures	—	Vor-	4	0,3420	—	0,82	4,5
			Versuchs-	4	<b>0,6170</b>	—		
			1. Nach-	4	<b>0,4366</b>	—		
			2. Nach-	4	0,2926	—		

## Fortsetzung.

Ver- suchs- Nr.	Glykocyamin		Periode	Zahl der Tage	Kreatininchlor- zink		Glyko- cyamin aus dem Harn zurück- gewon- nen g	Kreatin- zu- wachs in Pro- zent des Aus- gangs- mate- rials
	in g per os	sub- kutan			im ganzen g	pro Tag g		
9	—	9	Vor-	4	0,4020	—	2,7	14,3
		salz-	Versuchs-	4	<b>1,2384</b>	—		
		saures	1. Nach-	4	<b>0,4976</b>	—		
			2. Nach-	4	0,4284	—		
10	8 salz- saures	—	Vor-	4	0,2406	—	0,6	9,5
			Versuchs-	4	<b>0,7298</b>	—		
			1. Nach-	4	<b>0,6330</b>	—		
			2. Nach-	4	0,3368	—		
11 <sup>1)</sup>	9	—	Vor-	6	0,3154	0,0526	1,2	—
			Versuchs-	3	<b>0,4224</b>	<b>0,1408</b>		
12 <sup>1)</sup>	6 essig- saures	—	Vor-	6	0,2248	0,0374	—	—
			Versuchs-	2	<b>0,2371</b>	<b>0,1185</b>		

### Einfluß des Glykocyamins auf den Kreatingehalt der Muskeln.

Durch obige Darlegungen ist, wie ich glaube, der Beweis geliefert, daß das Glykocyamin im Organismus des Kaninchens teilweise in die Methylverbindung, das Kreatin, übergeht. Es erschien mir von Wichtigkeit, festzustellen, ob diese Synthese an der normalen Ursprungsstätte des Kreatins, in den Muskeln, selbst nachzuweisen ist. Im lebenden Organismus diesen Nachweis zu führen, dürfte kaum möglich sein, da selbstverständlich vergleichende Kreatinbestimmungen am Muskel vor und nach der Glykocyaminzufuhr ausgeschlossen sind. Doch konnte die Frage mit einiger Wahrscheinlichkeit beantwortet werden, wenn es gelang, in möglichst zahlreichen Versuchen in den Muskeln

<sup>1)</sup> Versuch 11 und 12 gehören zu den Muskelversuchen (s. u.).

der Glykocyamintiere einen größeren Kreatingehalt nachzuweisen als in den Muskeln von Kontrolltieren annähernd gleichen Gewichtes, die unter gleichen Ernährungsbedingungen gehalten wurden.

Von diesem Gesichtspunkte aus sind die folgenden Versuche unternommen worden, bei deren sehr mühevoller Ausführung mich Herr cand. med. Zander in dankenswerter Weise unterstützt hat.

Die Methode der Kreatinbestimmung schloß sich der oben für den Harn beschriebenen im wesentlichen an: Die Tiere wurden an dem der letzten Glykocyamindarreichung folgenden Tage getötet. Von der sofort möglichst vollständig abpräparierten, sorgfältig zerkleinerten und gewogenen Muskelmasse wurden in der Regel 150 g mit Wasser von 50—60° in erschöpfender Weise extrahiert, die von Eiweiß durch Erhitzen befreite Lösung mit Bleiessig unter Vermeidung eines Überschusses gefällt, das Filtrat nach Entfernung des Bleis auf ein kleines Volumen eingengt und zur Krystallisation mehrere Tage stehen gelassen. Das ausgeschiedene Kreatin wurde durch Wägung bestimmt, die von ihm abfiltrierte Mutterlauge mit den Waschwässern vereinigt und mit verdünnter  $\text{ClH}$  zum Zweck der Überführung des Kreatins in Kreatinin mehrere Stunden erhitzt. Die weitere Behandlung war dieselbe wie im Harn. Das auf dem Umwege der Pikrinsäurefällung, die sich hier als sehr notwendig erwies, gereinigte Kreatinin wurde schließlich als Zinkdoppelsalz gewogen.

In mehreren Versuchen ist dieses umständliche Verfahren insoweit vereinfacht worden, als der eingeeingte wässrige Muskelextrakt, ohne die Krystallisation des Kreatins abzuwarten, sofort mit verdünnter Salzsäure erhitzt und im übrigen der gleichen Behandlung unterworfen wurde, wie in den anderen Fällen. <sup>1)</sup>

### 1. Versuch.

Ia) Versuchstier: Weißes Kaninchen. 9 g Glykocyamin per os (3 × täglich 1 g). Hafer und Wruken.

<sup>1)</sup> In den Chlorzinkniederschlägen war weder Glykocyamin noch Glykocyamidin nachzuweisen, wie ich mich nach dem oben beschriebenen Verfahren überzeugte.

Anfangsgewicht: 2217 g

Endgewicht: 2150 »

Abnahme: 67 g

Gesamtmuskeln (ohne Bauchmuskeln): 493,3 g.

Wassergehalt: 75,2% (Mittel aus 2 Bestimmungen).

	Feuchte Muskeln		Trockene Muskeln
	150 g	%	%
Kreatininchlorzink:	<b>0,8041</b>	<b>0,536</b>	<b>2,16</b>

Harn : Kreatininchlorzink:

Vorperiode: 6 Tage: 0,3154 g, pro Tag: 0,0526 g

Versuchsperiode: 3 » : **0,4236** » » » : **0,1412** »

Aus dem Harn wiedergewonnen: 1,2 g reines Glykocyamin.

Ib) Kontrolltier: Dasselbe Futter.

Anfangsgewicht: 2239 g

Endgewicht: 2270 »

Zunahme: 31 g

Gesamtmuskeln (ohne Bauchmuskeln): 484,8 g.

Wassergehalt: 76,3% (Mittel aus 2 Bestimmungen).

	Feuchte Muskeln		Trockene Muskeln
	150 g	%	%
Kreatininchlorzink:	0,6736	0,449	1,89

Harn : Kreatininchlorzink:

Vorperiode: 6 Tage: 0,3276 g, pro Tag: 0,0546 g

Versuchsperiode: 3 » : 0,2264 » » » : 0,0737 »

Zusammenstellung:

Kreatininchlorzink in:

	Muskeln		Urin	
	feucht	trocken	Vorperiode	Versuchsperiode
	150 g	%	pro Tag	pro Tag
Versuchstier:	<b>0,8041</b>	<b>0,536</b>	<b>2,16</b>	<b>0,0526</b>
Kontrolltier:	0,6736	0,449	1,89	0,0737

Kreatinzuwachs = 11,4%.

## 2. Versuch.

IIa) Versuchstier: Gewicht 1620 g. 6 g essigsaures Glykocyamin per os (3 × täglich 1 g). Hafer und Grünfutter.

Gesamtmuskeln (ohne Bauchmuskeln): 363 g.

Wassergehalt: 76,95% (Mittel).

	Feuchte Muskeln		Trockene Muskeln
	150 g	%	%
Kreatininchlorzink:	<b>1,075</b>	<b>0,716</b>	<b>3,113</b>

Harn : Kreatininchlorzink:

Vorperiode: 6 Tage: 0,2248 g, pro Tag: 0,0374 g  
 Versuchsperiode: 2 > : **0,2371** > > > : **0,1185** >

IIb) Kontrolltier: Gewicht 1830 g. Futter: dasselbe.

Gesamtmuskeln: 344 g (ohne Bauchmuskeln).

Wassergehalt: 77,9% (Mittel).

	Feuchte Muskeln	Trockene Muskeln
	150 g	150 g
	%	%
Kreatininchlorzink:	0,880	0,586
		2,66

Harn : Kreatininchlorzink:

Vorperiode: 6 Tage: 0,2582 g, pro Tag: 0,0430 g  
 Versuchsperiode: 3 > : 0,1884 > > > : 0,0628 >

Zusammenstellung:

Kreatininchlorzink in:

	Muskeln		Urin	
	feucht	trocken	Vorperiode	Versuchsperiode
	150 g	%	pro Tag	pro Tag
Versuchstier:	<b>1,075</b>	<b>0,716</b>	<b>3,113</b>	<b>0,0374</b>
Kontrolltier:	0,880	0,586	2,66	0,0430
				0,0628
	Kreatininzuwachs = 11,7%.			

### 3. Versuch.

IIIa) Versuchstier: Gewicht 1040 g. 3½ g Glykocyamin in 3 Tagen per os. Wruken.

Gesamtmuskeln: 290 g.

Wassergehalt: 77,15% (Mittel).

	Feuchte Muskeln	Trockene Muskeln
	150 g	150 g
	%	%
Kreatininchlorzink:	<b>0,9202</b>	<b>0,613</b>
		<b>2,68</b>

III b) 1. Kontrolltier: Gewicht 1030 g. Wruken.

Gesamtmuskeln: 189,2 g.

Wassergehalt: 76,3% (Mittel).

	Feuchte Muskeln	Trockene Muskeln
	150 g	150 g
	%	%
Kreatininchlorzink:	0,669	0,446
		1,88

III c) 2. Kontrolltier: Gewicht 1860 g. Wruken.

Muskeln: 493,8 g.

Wassergehalt: 75,34% (Mittel).

	Feuchte Muskeln	Trockene Muskeln
	150 g	150 g
	%	%
Kreatininchlorzink:	0,702	0,468
		1,89

## Zusammenstellung:

	Feuchte Muskeln 150 g	%	Trockene Muskeln %
Versuchstier:	<b>0,9202</b>	<b>0,613</b>	<b>2,68</b>
1. Kontrolltier:	0,669	0,446	1,88
2.	: 0,702	0,468	1,82

Kreatininzuwachs = 42,5%.

## 4. Versuch.

IV a) Versuchstier: Gewicht 2020 g. Wruken. 3 1/2 g Glykocyamin per os in 3 Tagen.

Gesamtmuskeln: 442 g.

Wassergehalt: 77,71%.

	Feuchte Muskeln 150 g	%	Trockene Muskeln %
Kreatininchlorzink:	<b>0,5415</b>	<b>0,361</b>	<b>1,6</b>

IV b) Kontrolltier: Gewicht 2160 g. Wruken.

Gesamtmuskeln: 485 g.

Wassergehalt: 75,8%.

	Feuchte Muskeln 150 g	%	Trockene Muskeln %
Kreatininchlorzink:	0,5524	0,368	1,52

## Zusammenstellung:

## Kreatininchlorzink in:

	Feuchte Muskeln 150 g	%	Trockene Muskeln %
Versuchstier:	<b>0,5415</b>	<b>0,361</b>	<b>1,6</b>
Kontrolltier:	0,5524	0,368	1,52

Kreatininzuwachs = 5% (?).

## 5. Versuch: Hunger + Glykocyamin.

V a) Versuchstier: Gewicht 2210 g. 3 Tage Hunger, am 3. Tage 2,7 g Glykocyamin per os. Am folgenden Tage getötet.

Gesamtmuskeln: 566,6 g.

Wassergehalt: 75,6%.

	Feuchte Muskeln 150 g	%	Trockene Muskeln %
Kreatininchlorzink:	<b>0,7141</b>	<b>0,476</b>	<b>1,95</b>

V b) Kontrolltier: Gewicht 2240 g. 3 Tage Hunger, am 4. getötet.

Gesamtmuskeln: 586,8 g.

Wassergehalt: 77,3%.

	Feuchte Muskeln	Trockene Muskeln
	150 g	%
Kreatininchlorzink:	0,581	0,387
		1,71

## Zusammenstellung:

	Kreatininchlorzink in:		
	Feuchten Muskeln	Trockenen Muskeln	
	150 g	%	%
Versuchstier:	<b>0,7141<sup>1)</sup></b>	<b>0,476</b>	<b>1,95</b>
Kontrolltier:	0,581	0,387	1,71

## Zusammenstellung der Resultate:

## Kreatininchlorzink in Prozenten.

	Kontrolltier		Versuchstier		Kreatininzuwachs in Prozenten der trockenen Muskeln
	feuchte	trockene	feuchte	trockene	
	Muskeln		Muskeln		
Nr. I	0,449	1,89	0,536	2,16	11,4
» II	0,586	2,66	0,716	3,113	<b>11,7</b>
» III	{ 0,446	{ 1,88	0,613	2,68	42,5
	{ 0,468	{ 1,89			
» IV	0,368	1,52	0,361	1,6	5
» V	0,387	1,71	0,476 (?)	(?)	(?)

Von der Verwertung des 5. Versuches nehme ich Abstand, weil die Kreatinbestimmung in den Muskeln des Versuchstieres (Mittelzahl aus 2 sehr differierenden Parallelbestimmungen) unzuverlässig erscheint. Von den 4 übrigen Versuchen haben 3 insofern ein positives Resultat ergeben, als der Prozentgehalt an Kreatin sowohl in den feuchten, wie in den trockenen Muskeln gegenüber dem der Kontrolltiere sehr deutlich, in Versuch 3 sogar sehr beträchtlich erhöht war. Im Urin war eine vermehrte Kreatininausscheidung unverkennbar. Im 4. Versuch konnte eine Vermehrung des Muskelkreatins nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Die Anzahl der Versuche ist zu gering, um eine sichere Schlußfolgerung zu gestatten, da die Grenzen der individuellen Schwankungen des Kreatingehalts normaler Kaninchenmuskeln nicht bekannt sind und erst in einer größeren Versuchsreihe festgestellt werden müßten.

<sup>1)</sup> Mittelzahl aus 2 Parallelbestimmungen, die aus nicht mehr festzustellender Ursache wesentlich verschiedene Werte ergaben: 0,8822 g und 0,5460 g.

Der gefundene Zuwachs ist immerhin so erheblich (in einem Falle sogar 42% des Normalwertes betragend), daß er wenigstens mit einiger Wahrscheinlichkeit im Sinne der Kreatinsynthese aus Glykocyamin gedeutet werden kann. Über den tatsächlichen Umfang der letzteren können die Versuche natürlich keinen Aufschluß geben, da die sofort einsetzende Ausscheidung durch den Urin der Aufspeicherung des Kreatins in den Muskeln eine Grenze setzt.

### Die Vorstufen des Kreatins.

Durch den Nachweis, daß im Organismus des Kaninchens an den Guanidinrest des Glykocyamins Methyl angelagert wird, ist der normale Entstehungsmodus des Kreatins unserem Verständnis näher gerückt; er bedarf indes im einzelnen noch weiterer Aufklärung.

Daß das Kreatin der Muskeln ein Produkt des Eiweißstoffwechsels ist, unterliegt keinem Zweifel, wengleich der Eiweißgehalt der Nahrung die Kreatinausscheidung durch den Harn nicht unmittelbar beeinflußt.<sup>1)</sup> Die Entstehung und Ausscheidung des Kreatins folgt anderen Gesetzen wie die des Harnstoffs und ist das Resultat komplizierterer Vorgänge, die sich im Muskelgewebe selbst (und wohl auch in anderen Geweben) abspielen.

Diese bereits von Meissner<sup>2)</sup> hervorgehobene Tatsache ist neuerdings wieder von van Hoogenhuyze und Verploegh<sup>3)</sup> auf Grund der von Folin<sup>4)</sup> entwickelten Vorstellungen von der Eiweißzersetzung im Tierkörper eingehend erörtert worden. Wie weit die Kreatinausscheidung als Maß für die Größe des Gewebsumsatzes gelten kann, muß erst durch genauere Untersuchungen festgestellt werden. Es wäre denkbar, daß das Kreatin, dessen Ausscheidungsverhältnisse denen der Harnpurine, wie von verschiedenen Seiten hervorgehoben,<sup>5)</sup> analog sind,

<sup>1)</sup> van Hoogenhuyze u. Verploegh, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI.

<sup>2)</sup> Zeitschrift für rationelle Medizin, Bd. XXXI, S. 295.

<sup>3)</sup> l. c., S. 435.

<sup>4)</sup> Americ. Journ. of Physiology, Vol. XIII.

<sup>5)</sup> Vergl. u. a. R. Burian, Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 545.

ebensowenig wie diese von den Eiweißstoffen im engeren Sinne abstammt, sondern aus den Nucleinsubstanzen hervorgeht. Diese Möglichkeit, die durch den Nachweis von Guanidin unter den Oxydationsprodukten der Thymusnucleinsäure<sup>1)</sup> gestützt wird, glaube ich auf Grund von eigenen Beobachtungen ausschließen zu können. Hunde, welche in meinem Laboratorium mit großen Mengen nucleinreicher Nahrung (Thymusdrüse) gefüttert wurden, zeigten durchaus keine Kreatininvermehrung im Harn.

Frägt man nun nach den Vorstufen, welche beim Abbau der Eiweißkörper der Kreatinsynthese vorausgehen, so wird man zunächst auf das im Eiweißmolekül präformierte Guaninderivat, das Arginin, hingewiesen, welches schon von Czerniecki, wie von van Hoogenhuyze und Verploegh als Muttersubstanz des Kreatins in Betracht gezogen worden ist.

Wie Kutscher<sup>2)</sup> gezeigt hat, wird Arginin in vitro durch Baryumpermanganat unter Austritt von  $\text{NH}_3$  zu Guanidinbutter-säure oxydiert. Wir wissen ferner durch die Untersuchungen von A. Kossel und H. D. Dakin,<sup>3)</sup> daß in der Leber und verschiedenen anderen Organen der Säugetiere ein Ferment vorhanden ist, welches das Arginin in Harnstoff und Ornithin zerlegt. Über den Umfang, in welchem die fermentative Spaltung durch Arginase im lebenden Organismus vor sich geht, war bisher nichts bekannt; <sup>4)</sup> es stand deshalb der Vorstellung nichts im Wege, daß neben derselben an dem Abbau des Arginins im Stoffwechsel ein direkter Oxydationsvorgang beteiligt ist, welcher bis zur Bildung von Guanidinessigsäure fortschreitet. Die Annahme, daß dieser Vorgang in Beziehung steht zu der Kreatinsynthese in den Muskeln, findet vielleicht eine Stütze in der

<sup>1)</sup> Kutscher und Seemann, Chem. Ber., Bd. XXXVI.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXII.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLI und XLII.

<sup>4)</sup> Inzwischen hat W. H. Thompson (Journal of Physiology, Bd. XXXII und XXXIII, 1905), dessen Publikation mir erst nach Abschluß meiner Versuche bekannt wurde, gefunden, daß per os darge-reichtes Arginin bei Hunden in wechselnden großen Mengen (37,6, 52,99, 77,03% des N entsprechend), subkutan appliziertes bis nahe an 100% als Harnstoff im Urin auftritt. Es ist hiernach an eine Beziehung des Arginins zur Kreatinbildung kaum noch zu denken.

Tatsache, daß gerade in diesem Organ keine oder nur eine zweifelhafte Arginasewirkung von Kossel und Dakin nachgewiesen werden konnte. Meine Versuche sprechen indessen nicht zugunsten einer solchen Auffassung. Leider konnte das Verhalten des Arginins wegen Mangels an Material nur an zwei Tieren, und vielleicht auch nicht mit genügend großen Substanzmengen geprüft werden; in den bisherigen beiden Versuchen war ein Einfluß auf die Kreatinausscheidung im Harn nicht zu konstatieren.

### Argininversuche.

Das Arginin wurde als Nitrat subkutan injiziert, nachdem die Lösung vorher durch Soda schwach alkalisch gemacht war.

#### 1. Versuch.

5 g Argininnitrat (in Einzeldosen von 0,5 g auf 3 Tage verteilt) subkutan.

Periode	Zahl der Tage	Gewicht g	Kreatininchlorzink	
			im ganzen g	pro Tag g
Vorperiode . . . . .	4	2245	0,3774	0,0943
Versuchsperiode . . .	5	2140	0,3504	0,0700
Nachperiode . . . . .	5	2208	0,1682	0,0336

#### 2. Versuch.

5 g Argininnitrat subkutan im Laufe von 3 Tagen (3 × täglich 1 g).

Periode	Zahl der Tage	Gewicht g	Kreatininchlorzink	
			im ganzen g	pro Tag g
Vorperiode . . . . .	4	2560	0,3764	0,0941
Versuchsperiode . . .	4	2600	0,3866	0,0966
Nachperiode . . . . .	6	2600	0,5586	0,0932

Wenn somit die Kreatinbildung, wie aus den mitgeteilten Versuchen gefolgert werden kann, nicht die Zwischenstufe des

Arginins durchläuft, so ist sie vielleicht durch die Annahme zu erklären, daß direkt aus dem Eiweiß abgespaltenes Guanidin im Entstehungsmoment mit Aminoessigsäure in Reaktion tritt oder auf andere Weise sich mit einem Essigsäurerest verbindet. Daß bei dem oxydativen Abbau, wie bei der Hydrolyse verschiedener Eiweißkörper freies Guanidin auftritt, ist durch Kutscher<sup>1)</sup> und seine Mitarbeiter bewiesen; Otori<sup>2)</sup> hat es wahrscheinlich gemacht, daß dasselbe aus einem im Eiweiß präformierten Guanidinkern, nicht sekundär aus dem Arginin hervorgeht. Die Möglichkeit des Auftretens von freiem Guanidin im intermediären Stoffwechsel wird weder durch die Giftigkeit der Base ausgeschlossen, noch durch die von Pommerrenig<sup>3)</sup> ermittelte Tatsache, daß Guanidin im normalen Harn der Kaninchen nicht vorhanden ist, während subkutan oder per os eingeführte kleine Mengen nahezu vollständig ausgeschieden werden. Bei größeren, den toxischen sich nähernden Dosen sinkt übrigens die Ausscheidungsgröße erheblich und bei Hunden und Hühnern beträgt sie auch nach kleineren Dosen nur ca. 50% der eingeführten Menge, woraus hervorgeht, daß das Guanidin im Organismus keineswegs unangreifbar ist.

Die Umwandlung in Kreatin würde die Entgiftung der Base und ihr Fehlen im normalen Harn erklären.

Daß von außen eingeführte Stoffwechselprodukte sich im Organismus anders verhalten wie die im Tierkörper selbst entstandenen, ist eine aus der Erfahrung hinreichend bekannte Tatsache. Ich brauche nur an das verschiedene Verhalten des bei der Eiweißzersetzung abgespaltenen und des subkutan oder in die Venen injizierten kohlen sauren Ammoniaks zu erinnern.

---

1) Kutscher und Schenck, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XXXVIII (Guanidin aus Leim).

Kutscher und Seemann, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XXXVI (Guanidin aus Thymusnucleinsäure).

Kutscher und Zickgraf, Sitzungsberichte der Akademie der Wissensch. zu Berlin, Bd. XXVIII (Guanidin aus Leim).

Kutscher und Otori, Diese Zeitschrift, Bd. XLIII (Guanidin bei Autolyse des Pankreas).

2) Otori, Diese Zeitschrift, Bd. XLIII (Guanidin aus Pseudomucin).

3) Pommerrenig, Hofmeisters Beitr., Bd. I.

Wir sind eben nicht imstande, die resorbierten Stoffe in denjenigen Stoffwechselstätten zu konzentrieren, in welchen sie normalerweise ihre spezifische Umwandlung erfahren. Aus diesem Grunde erschien die experimentelle Prüfung der Frage nach der Beziehung des Guanidins zur Kreatinbildung von vornherein wenig aussichtsvoll.

In der Tat sind die von mir angestellten, mannigfach variierten Versuche, in welchen Kaninchen Guanidincarbonat teils allein, teils in Kombination mit Glykokoll dargereicht wurde, an der Giftwirkung der Base gescheitert.

In neuerer Zeit sind von Kutscher<sup>1)</sup> im Liebigschen Fleischextrakt nicht unerhebliche Mengen von Methylguanidin aufgefunden worden. Ob diese Verbindung bereits im frischen Fleisch enthalten oder erst durch postmortale Spaltung des Kreatins, vielleicht wie die Bernsteinsäure des Fleischextrakts,<sup>2)</sup> durch Bakterienwirkung entsteht, ist zur Zeit noch nicht entschieden. Doch liegt jedenfalls in diesem Befunde ein Hinweis auf die Möglichkeit, daß im Eiweißmolekül auch ein Methylguanidinkern präformiert ist, der bei der Kreatinbildung in Betracht kommen könnte. Wenn diese Base unter den Produkten der künstlichen Eiweißspaltung bisher nicht nachgewiesen wurde, so beweist dies nichts gegen ihre Existenz, da Methylguanidin neben Guanidin ohne Zweifel sehr leicht übersehen werden kann. Direkt auf diesen Punkt gerichtete Untersuchungen liegen bisher nicht vor. Fütterungsversuche mit Methylguanidin habe ich bereits in Angriff genommen, über seine Beteiligung an der Kreatinsynthese aber noch keine entscheidenden Resultate erhalten. Zwar wird Methylguanidin von Kaninchen in größeren Dosen vertragen, wie Guanidin, doch ließen sich Vergiftungserscheinungen nicht ausschließen, deren Einfluß auf die Versuchsergebnisse noch nicht beurteilt werden kann. Immerhin möchte ich nicht unerwähnt lassen, daß in einem Versuche die Dosis von ca. 2 g Methylguanidinchlorhydrat, welche im Laufe von 2 Tagen subkutan injiziert wurde und nur leichte Intoxika-

---

<sup>1)</sup> Zentralblatt für Physiologie, 1905.

<sup>2)</sup> Wolf, Festschrift für Salkowski.

tionssymptome hervorrief, von denen sich das Tier in wenigen Tagen völlig erholte, eine Vermehrung der Kreatinausscheidung im Harn nicht erkennen ließ. Ich behalte mir vor, diese Versuche zu wiederholen und die Untersuchung über die Vorstufen des Muskelkreatins noch von anderen Gesichtspunkten aus fortzusetzen. Die naheliegende Frage, ob sich Cyanamid und Glykokoll im Organismus zu einem Guanidinderivat vereinigen lassen, wie es in vitro der Fall ist, wird durch meine bisherigen Beobachtungen in negativem Sinne beantwortet; wenigstens sind die Giftwirkungen des Cyanamids — wie es andernfalls zu erwarten war — durch gleichzeitige Darreichung von Glykokoll weder aufgehoben, noch gemildert worden.<sup>1)</sup>

Die chemischen Vorgänge bei der Entstehung des Kreatins in den Muskeln sind somit noch keineswegs aufgeklärt und wenn auch der Organismus, wie ich dargetan zu haben glaube, die Fähigkeit besitzt, die Guanidinessigsäure zu methylieren, so ist durch diesen Nachweis, wie ich ausdrücklich betonen möchte, die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Kreatinbildung im normalen Stoffwechsel auf einem ganz andern, noch unbekanntem Wege vor sich geht.

Die Resultate meiner Untersuchung fasse ich in folgenden Sätzen zusammen:

1. Glykocyamin (Guanidinessigsäure) wird im Organismus des Kaninchens durch Anlagerung von Methyl in Kreatin umgewandelt.

2. Arginin gehört sehr wahrscheinlich nicht zu den Vorstufen des Kreatins.

---

Zur Zeit ist Herr Dr. Dorner in meinem Laboratorium damit beschäftigt, die in vorstehender Abhandlung mitgeteilten Resultate nach der zweckentsprechend modifizierten Folinschen Methode zu kontrollieren und eine Reihe von andern, auf die

---

<sup>1)</sup> Ich verweise übrigens auf die S. 465 gelegentlich des Guanidins geäußerten Bedenken gegen die Beweiskraft derartiger Entgiftungsversuche.

Entstehung und Ausscheidung des Kreatins bezüglichen Fragen in den Bereich der Untersuchung zu ziehen. Soweit dieselbe das Verhalten des Glykocyamins betrifft, haben die bisherigen Versuche meine Ergebnisse bestätigt. Über die Resultate seiner Arbeit, die wohl noch geraume Zeit in Anspruch nehmen dürfte, wird in dieser Zeitschrift berichtet werden.

---