

HOPPE-SEYLER'S ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

E. ABDERHALDEN-Berlin, G. v. BUNGE-Basel, O. COHNHEIM-Heidelberg, P. EHRLICH-Frankfurt a. M., EMIL FISCHER-Berlin, W. v. GULEWITSCH-Moskau, O. HAMMARSTEN-Upsala, S. G. HEDIN, G. HOPPE-SEYLER-Kiel, C. G. HÜFNER-Tübingen, M. JAFFE-Königsberg, FR. KUTSCHER-Marburg, E. LUDWIG-Wien, CARL TH. MÖRNER-Upsala, K. A. H. MÖRNER-Stockholm, W. OSTWALD-Großbothen, I. P. PAWLOW-St. Petersburg, C. A. PEKELHARING-Utrecht, E. SALKOWSKI-Berlin, E. SCHULZE-Zürich, M. SIEGFRIED-Leipzig, H. STEUDEL-Heidelberg, H. THIERFELDER-Berlin

herausgegeben von

A. KOSSEL,

Professor der Physiologie in Heidelberg

Zweiundfünfzigster Band:

Drittes und viertes Heft.

(Ausgegeben am 16. Juli 1907.)

Mit sechs Kurvenzeichnungen und einer Abbildung im Text.

STRASSBURG

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER

1907.

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND, DRITTES U. VIERTES HEFT.

Inhalt.

	Seite
Dorner, G. Zur Bildung von Kreatin und Kreatinin im Organismus, besonders der Kaninchen. Mit sechs Kurvenzeichnungen im Text	225
Dietz, Wilhelm. Über eine umkehrbare Fermentreaktion im heterogenen System. Esterbildung und Esterverseifung . . .	279
Abderhalden, Emil, und Leonor Michaelis. Der Verlauf der fermentativen Polypeptidspaltung	326
Scheunert, Arthur, und Robert Bergholz. Zur Kenntnis der Pankreaskonkremente. Mit einer Abbildung im Text . . .	338
Abderhalden, Emil, und Arthur Voitinovici. Hydrolyse des Keratins aus Horn und aus Wolle	348
— » — — » — Weitere Beiträge zur Kenntnis der Zusammensetzung der Proteine	368
Neubauer, Otto, und L. Flatow. Synthesen von Alkaptonsäuren	375
Burian, Richard. Zur Richtigstellung	399

Für die nächsten Hefte sind Arbeiten eingegangen von:

T. Kikkoji und R. Iguchi, E. Schulze, S. G. Hedin, O. J. Hofbauer, O. Cohnheim, R. O. Herzog und F. Hörth, E. Abderhalden, B. Bloch und P. Rona, K. B. Hofmann und F. Pregl, E. v. Knaffl-Lenz, H. Buchtala, E. S. London und A. Sagelmann, L. Preti, D. Lawrow, C. Th. Becker und R. O. Herzog, Wl. Gulewitsch, M. Siegfried, E. Abderhalden und P. Rona.

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie erscheint in Bänden zu 6 Heften, jedes zu ungefähr 5—6 Bogen. Die Hefte erscheinen in Zwischenräumen von 1—2 Monaten. Preis des Bandes 12 Mark.

Die in dieser Zeitschrift zu publizierenden Arbeiten werden, wenn es nicht aus technischen Gründen unmöglich ist, in der Reihenfolge, in welcher sie der Redaktion zugehen, aufgenommen. — Kurze Notizen oder Bemerkungen zu anderen Arbeiten werden in der Regel am Schluß des Heftes und außerhalb der Reihenfolge des Eingangsdatums mitgeteilt. — Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte Arbeiten, sowie Referate über bereits publizierte Arbeiten werden nicht aufgenommen.

Das Honorar beträgt für den Druckbogen 25 Mark. Von jeder Arbeit werden dem Verfasser 75 Separat-Abdrücke gratis geliefert.

In bezug auf die Rechtschreibung der Fachausdrücke sind bis auf weiteres die Publikationen der Deutschen chemischen Gesellschaft maßgebend. In zweifelhaften Fällen wird der etymologische und internationale Standpunkt vor dem phonetischen bevorzugt.

Verlag von **KARL J. TRÜBNER** in **Straßburg.**

Soeben erschienen:

Die Fette vom physiologisch-chemischen Standpunkte.

Von

Dr. Adolf Jolles,

Honorar-Dozent am k. k. Technologischen Gewerbemuseum in Wien.

8°. 71 Seiten. 1907. *M.* 1.60.

Diese Schrift ist bestimmt, eine fühlbare Lücke in der einschlägigen Literatur auszufüllen, und wird sowohl Physiologen, als auch allen Medizinern, Chemikern und Pharmazeuten gute Dienste leisten. Die diesbezügliche Literatur ist in dieser Monographie nicht nur sehr kritisch, sondern auch sehr übersichtlich verarbeitet.

Früher erschienen:

Die chemischen Schutzmittel des Tierkörpers bei Vergiftungen.

Von

Emil Fromm.

ao. Professor an der Universität Freiburg i. Br.

8°. IV, 32 S. 1903. Preis *M.* 1.—

«Die in bemerkenswerter Kürze und Klarheit geschriebene Broschüre versucht ein Bild des chemischen Rüstzeuges zu geben, dessen sich der Tierkörper bei denjenigen Vergiftungen bedient, deren Verlauf man chemisch verfolgen kann»

Naturwissenschaftliche Wochenschrift. N. F. III. Nr. 23.

«Der Inhalt dieser Arbeit läßt sich kurz nicht wiedergeben. Wir empfehlen aber ihre Lektüre allen, die an toxikologisch-chemischen Fragen Interesse haben.»

Pharmaceutische Zeitung 1903, Nr. 86.

Über

die chemische Beschaffenheit und die Funktion der Schilddrüse.

Von

Dr. Adolph Oswald.

8°. IV, 61 S. 1901. Preis *M.* 1.50.

Vereinigte Fabriken für Laboratoriumsbedarf

Berlin N., Chausseestraße 3.

Vorteilhafteste Bezugsquelle

kompletter Einrichtungen sowie Ergänzungen physiologischer - chemischer, pathologischer, bakteriolog., hygienischer u. mikroskopischer

Laboratorien.

Neue Preisliste Nr. 54 gratis u. franko.

Sachgemäße Kostenanschläge auf Verlangen.

Herstellung
neuer Apparate
nach Zeichnung
und
Beschreibung.

Fabrikmarke:

V.F.L.



Max Kaehler & Martini.

Dr. Peters & Rost.

Der siebente internationale Physiologen-Kongreß

findet vom 13.—16. August in Heidelberg statt.

Zugleich soll eine Ausstellung physiologischer

Apparate veranstaltet werden. Anmeldungen für

Vorträge sind *möglichst bald* zu richten

an das Physiologische Institut der

Universität Heidelberg.

Zur Bildung von Kreatin und Kreatinin im Organismus, besonders der Kaninchen.

Von

G. Dorner, Assistent am Institut.

Mit sechs Kurvenzeichnungen.

(Aus dem Laboratorium für medizinische Chemie und experimentelle Pharmakologie
der Universität Königsberg i. Pr. Direktor: Geh. Medizinalrat Professor Dr. Jaffe.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. Mai 1907.)

In seiner vor kurzem erschienenen Arbeit «Untersuchungen über die Entstehung des Kreatins im Organismus»¹⁾ hat Professor Jaffe nachgewiesen, daß Glykocyamin im Organismus zu Kreatin methyliert wird. Auf seine Veranlassung prüfte ich mittels der Folinschen Methode die von ihm nach dem älteren, allerdings wesentlich modifizierten Neubauerschen Verfahren gewonnenen Resultate nach und knüpfte daran weitere Versuche über die Bildung des Kreatins im Organismus der Kaninchen und über Ausscheidung desselben unter gewissen Verhältnissen.

Zur Methodik.

Die kolorimetrische Methode der Kreatininbestimmung, die von Folin angegeben worden ist, beruht auf der von Jaffe²⁾ gefundenen Pikrinsäurereaktion. Diese Methode hat gegenüber allen bisher empfohlenen außerordentliche Vorteile, denn erstens gestattet sie, innerhalb weniger Minuten die Bestimmung zu erledigen, die sonst Tage in Anspruch nahm, zweitens ermöglicht sie, den Gehalt an Kreatin neben dem Kreatinin im Urin zu ermitteln, drittens ist sie in allen kreatininhaltigen Flüssigkeiten, die nicht zu starke Eigenfarbe besitzen, anzustellen. Was die

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 403.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 391.

Exaktheit der Methode anlangt, so läßt sich darüber nur soviel sagen, daß sie die früheren Methoden zweifellos übertrifft, und daß die Werte des präformierten Kreatinins außerordentlich scharf abgelesen werden können, wie die Untersuchungen von Folin¹⁾ selbst, van Hoogenhuyze und H. Verploegh,²⁾ Emil Baur und Hermann Barschall,³⁾ Klerker,⁴⁾ Koch,⁵⁾ Noel Paton⁷⁾ beweisen. Bezüglich der Festlegung der Kreatinwerte ist die Methode nicht so exakt; doch liegt das nicht an der kolorimetrischen Bestimmung, sondern an den Schwierigkeiten einer quantitativen Verwandlung von Kreatin in Kreatinin, worauf ich sogleich zurückkommen werde.

Um ein eigenes Urteil über die Leistungsfähigkeit des Verfahrens zu gewinnen, und um gewisse schon von Jaffe diskutierte Einwände zu prüfen, welche gegen die Schlußfolgerungen aus den Glykocyaminfütterungsversuchen erhoben werden konnten, hatte ich folgende Vorfragen zu erledigen:

1. Inwieweit gibt die Folin'sche Methode richtige Kreatininwerte an?

2. Wie lange und in welcher Säurekonzentration muß das Erhitzen stattfinden, um alles Kreatin in Kreatinin überzuführen?

3. Inwieweit wird die Methode durch gleichzeitige Anwesenheit von Glykocyamin im Urin beeinflußt?

Der von mir zur kolorimetrischen Bestimmung benutzte Apparat war nach den Angaben von van Hoogenhuyze und Verploegh von Kagenaar in Utrecht angefertigt und gestattete eine Ablesung auf $\frac{1}{10}$ mm Genauigkeit. Es wurden stets 4 Ablesungen gemacht und daraus das Mittel genommen; sie variierten selten mehr als $\frac{3-5}{10}$ mm. Der Nullpunkt mußte vor jeder Bestimmung neu kontrolliert werden. Als Vergleichslösung

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 223 und American Journ. of Phys., Bd. XIII, S. 84 u. 118, 1905.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 415.

³⁾ Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte, Bd. XXIV, Heft 3, 1906.

⁴⁾ Hofmeisters Beiträge, Bd. VIII, S. 59.

⁵⁾ Biochemische Zeitschrift, Bd. III, S. 45.

⁶⁾ American Journ. of Phys., Bd. XV, S. 15, 1905/06.

⁷⁾ Journal of Physiol., Vol. XXXIII, p. 1.

diente eine $1/2$ Normal-Kaliumbichromatlösung. Zur Eichung verwendeten wir eine aus reinem Kreatin durch Erhitzen mit verdünnter Salzsäure dargestellte Kreatininlösung. Es ergaben sich die von Folin und van Hoogenhuyze und Verploegh angegebenen Werte, d. h. eine Lösung von 10 mg Kreatinin mit 15 ccm einer gesättigten, wässrigen Pikrinsäurelösung und 5 ccm 10%iger Natronlauge versetzt, ergab, auf 500 ccm aufgefüllt, einen Farbenwert bei 8,1 mm Schichtdicke, der 8 mm der Kaliumbichromatlösung entsprach. Bei doppelter Konzentration, also 20 mg Kreatinin, entsprachen 4,15 mm der Testlösung von 8 mm. Und bei einer Konzentration von 5 mg Kreatinin entsprachen 16,0 statt 16,2 mm den 8 mm Kaliumbichromatlösung, so daß innerhalb dieser Grenzen die kolorimetrischen Werte als einander äquivalent gesetzt werden können, wie Folin schon nachgewiesen hat. Etwas abweichend hat Koch¹⁾ die Konzentration der Kreatininlösung angegeben; nach ihm entsprechen 11,5 mg 8 mm Schichtdicke der $n/2$ -Kaliumbichromatlösung, doch konnte ich diese Angabe nicht bestätigen. In den Bestimmungen hielten wir uns an die angegebenen Werte. Wir verdünnten den Urin, wenn er in 10 ccm mehr als 20 mg Kreatinin zeigte, und nahmen andererseits für die Bestimmung statt 10 ccm 20 und 30 ccm, wenn der Kreatininhalt geringer als 5 mg in 10 ccm war. Stand nur wenig Urin zur Verfügung, oder mußte der größere Teil anderweitig verarbeitet werden, so füllten wir statt auf 500 ccm nur auf 250 ccm auf und setzten nur die Hälfte Pikrinsäure und NaOH zu. Doch geschah diese Art der Bestimmung nur selten. Die Harnfarbe spielt bei der starken Verdünnung kaum eine Rolle und beeinträchtigt jedenfalls nicht die Genauigkeit der Bestimmung. Im allgemeinen erfolgte die Ablesung 5—15 Minuten nach dem Zusatz der Pikrinsäure und NaOH.

Daß im normalen Menschenurin Kreatin enthalten sein kann, hat Folin und nach ihm Klerker nachgewiesen; sie geben als die beste Methode der Umwandlung in Kreatinin für kleine Mengen dreistündiges Erhitzen im Wasserbade mit

¹⁾ l. c.

$\frac{1}{2}$ Volumen n-HCl an. Für den Kaninchen- und Hundeurin mußten diese Verhältnisse erst festgestellt werden. Bezüglich der Umsetzung von Kreatin in Kreatinin fand Jaffe ca. 70% des zugesetzten Kreatins nach Erhitzen in 4%iger Salzsäurelösung, dagegen 90% bei Anwendung von 2%iger Salzsäure und 3—4stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade.

Baur und Barschall geben ihrer Meinung dahin Ausdruck, daß bei mehrstündigem Erwärmen mit $\frac{1}{3}$ Volumen Normal-HCl die Verwandlung stets quantitativ sei. Ganz anders spricht sich Folin in der Festschrift für Hammarsten aus: er sagt dort, daß für kleine Mengen bei anhaltendem Erwärmen mit Mineralsäuren eine quantitative Überführung eintreten kann, daß dieselbe aber bei größeren Mengen sehr inkonstante Resultate liefert, bald vollständig, bald unvollständig gelingt. Meine eigenen Versuche ergaben folgendes:

Verwandlung von Kreatin in Kreatinin.

1. Reines Kreatin.

Versuch I. 0,1 g trockenes Kreatin in 100 ccm Wasser entsprechend 0,0862 g Kreatinin.

10 ccm der Lösung geben nach 5stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade mit 5 ccm n-HCl 7,43 statt 8,62 mg Kreatinin = 86,2%.

10 ccm der Lösung geben nach 3stündigem Erhitzen mit 10 ccm n-HCl 7,5 statt 8,62 mg = 87%.

10 ccm der Lösung geben nach 5stündigem Erhitzen mit 10 ccm n-HCl 8,1 statt 8,62 mg = 93,96%.

10 ccm der Lösung geben nach 3stündigem Erhitzen mit 20 ccm n-HCl 8,617 statt 8,62 mg = 99,97%.

10 ccm der Lösung geben nach 5stündigem Erhitzen mit 20 ccm n-HCl 8,35 statt 8,62 mg = 96,07%.

Versuch II. 0,1185 g trockenes Kreatin entsprechend 0,1041 g Kreatinin auf 100 ccm Wasser. Von dieser Lösung geben:

10 ccm, 3 Stunden mit 10 ccm n-HCl erwärmt, 8,526 statt 10,41 mg = 81,98%.

10 ccm, 3 Stunden mit 20 ccm n-HCl erwärmt, 8,8 statt 10,41 mg = 84,6⁰/₁₀₀.

10 ccm, 3 Stunden mit 5 ccm 25⁰/₁₀₀iger HCl erwärmt, 9,64 statt 10,41 mg = 92,7⁰/₁₀₀.

Versuch III. 0,215 g trockenes Kreatin entsprechend 0,1853 g Kreatinin in 50 ccm Wasser.

Von dieser Lösung geben auf dem Wasserbade erwärmt:

10 ccm 4 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl 28,7 statt 37,06 mg = 77,4⁰/₁₀₀.

10 ccm, 2 mal mit je 20 ccm n-HCl eingedampft, 28,7 statt 37,06 mg = 77,44⁰/₁₀₀.

10 ccm 6 Stunden mit 20 ccm n-HCl 30,0 statt 37,06 mg = 80,95⁰/₁₀₀.

Versuch IV. 0,1115 g krystallwasserhaltiges Kreatin, entsprechend 0,08451 g Kreatinin, in 50 ccm Wasser.

Von der Lösung geben auf dem Wasserbade erwärmt:

10 ccm 3 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl 16,2 mg Kreatinin statt 16,9 mg = 95,8⁰/₁₀₀.

10 ccm, 3 mal mit 20 ccm n-HCl eingedampft, 13,8 statt 16,9 mg = 81,6⁰/₁₀₀.

10 ccm 3 Stunden mit 10 ccm 25⁰/₁₀₀iger HCl = 14,1 mg Kreatinin statt 16,9 mg = 83,1⁰/₁₀₀.

Aus diesen Versuchen ist zu folgern, daß die günstigsten Bedingungen für eine vollkommene Umwandlung gegeben sind bei einer ca. 0,1⁰/₁₀₀igen Kreatinlösung durch 3—4stündiges Erwärmen auf dem Wasserbade mit der doppelten Menge Normalsalzsäure; im ungünstigsten Falle war die Umsetzung bei dieser Versuchsanordnung 85⁰/₁₀₀, im günstigsten 100⁰/₁₀₀. War die Kreatinlösung konzentrierter als 0,1⁰/₁₀₀, so war die Umwandlung unvollkommener, desgleichen bei stärkerer oder geringerer Konzentration der Salzsäure. Die passendste Säurekonzentration scheint danach bei 2,5⁰/₁₀₀ Salzsäure zu liegen. Diese Zahlen decken sich ziemlich genau mit den von Jaffe angegebenen.

2. Kreatin + Kaninchenurin.

Probe I. a) 100 ccm normalen Urins ergaben vor und nach Erhitzen mit Salzsäure 40,9 und 41,1 mg Kreatinin.

b) 100 ccm desselben Urins mit 0,1785 g krystallwasserhaltigem Kreatin = 0,1353 g Kreatinin versetzt.

Von dieser Lösung geben auf dem Wasserbade erwärmt:
10 ccm 3 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl 16 mg Kreatinin, also vom zugesetzten Kreatin wiedergefunden 16,0 mg — 4,1 mg = 11,9 statt 13,5 mg = 88,1 %.

10 ccm 5 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl 15,9 mg Kreatinin, also gefunden vom zugesetzten Kreatinin 15,9 — 4,1 mg (Gehalt des ursprünglichen Urins an Kreatinin) = 11,8 statt 13,5 mg = 87,4 %.

Probe II. a) 10 ccm Kaninchenurin enthielten 4,88 mg Gesamtkreatinin.¹⁾

b) Zu 120 ccm desselben Urins 0,1185 g trockenes Kreatin zugesetzt entsprechend 0,103 g Kreatinin.

Von diesem Urin ergaben auf dem Wasserbade erwärmt:
10 ccm 3 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl 11,1 mg Kreatinin, also wiedergefunden 11,1 — 4,88 mg = 6,22 statt 8,58 mg = 72,5 %.

Probe III. a) 10 ccm Urin enthielten 2,9 mg Gesamtkreatinin.

50 ccm des Urins wurden eingedampft, der Rückstand heiß mit Alkohol extrahiert, der Alkohol verjagt, der Rückstand in 50 ccm Wasser aufgenommen und mit Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzt.

10 ccm ergaben gleichfalls 2,9 mg Kreatinin.

b) Zu 100 ccm desselben Urins 0,155 g krystallwasserhaltiges Kreatin zugesetzt entsprechend 0,117 g Kreatinin. Von diesem Urin geben auf dem Wasserbade erwärmt:

10 ccm 4 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl 12,66 mg

¹⁾ Unter Gesamtkreatinin verstehe ich die nach dem Erhitzen mit Salzsäure kolorimetrisch abgelesenen Mengen an Kreatinin, welche also aus dem präformierten Kreatinin und dem aus vorhandenem Kreatin gebildeten Kreatinin bestehen.

Kreatinin. Wiedergefunden von dem zugesetzten Kreatin $12,66 - 2,93 \text{ mg} = 9,73$ statt $11,7 \text{ mg} = 83,1\%$.

10 ccm nach Alkoholextraktion $10,4 \text{ mg}$. Wiedergefunden $10,4 - 2,925 \text{ mg} = 7,475$ statt $11,7 \text{ mg} = 63\%$.

c) Zu 50 ccm desselben Urins zugesetzt $0,155 \text{ g}$ krystallwasserhaltiges Kreatin entsprechend $0,117 \text{ g}$ Kreatinin.

50 ccm zur Trockne verdampft, mit Alkohol heiß extrahiert, der Alkoholrückstand mit 50 ccm $2,3\%$ iger Salzsäure auf dem Wasserbade 3 Stunden erhitzt.

10 ccm der Lösung gaben $12,09 \text{ mg}$, also wiedergefunden $9,165$ statt $23,9 \text{ mg}$ Kreatinin $= 38,8\%$.

Probe IV. a) 10 ccm Urin enthielten $3,6 \text{ mg}$ Gesamtkreatinin.

Das Alkoholextrakt ergab in 10 ccm $3,0 \text{ mg}$ Gesamtkreatinin.

b) Zu 100 ccm desselben Urins $0,06 \text{ g}$ krystallwasserhaltiges Kreatinin entsprechend $0,0454 \text{ g}$ Kreatinin.

Von diesem Urin, auf dem Wasserbade erhitzt, ergaben:

10 ccm 3 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl $8,26 \text{ mg}$ Kreatinin. Wiedergefunden $8,26 - 3,6 \text{ mg} = 4,60$ statt $4,54 \text{ mg} = 101,3\%$.

10 ccm 3 Stunden mit 20 ccm n-HCl eingedampft, mit Alkohol aufgenommen, $7,57 \text{ mg}$. Wiedergefunden $7,57 - 3,0 \text{ mg} = 4,57$ statt $4,54 \text{ mg} = 100,6\%$.

10 ccm des alkoholischen Auszuges, mit Salzsäure 3 Stunden erhitzt, ergaben $7,43 \text{ mg}$ Kreatinin. Wiedergefunden $7,43 - 3,0 \text{ mg} = 4,43$ statt $4,54 \text{ mg} = 97,4\%$.

c) 50 ccm desselben Urins $+ 0,06 \text{ g}$ krystallwasserhaltiges Kreatinin $= 0,0454 \text{ g}$ Kreatinin.

Von diesem Urin ergeben auf dem Wasserbade erhitzt:

10 ccm 3 Stunden hindurch mit 20 ccm n-HCl $11,7 \text{ mg}$. Wiedergefunden $11,7 - 3,6 \text{ mg} = 8,1$ statt $9,08 \text{ mg} = 89,2\%$.

10 ccm nach der Alkoholextraktion 3 Stunden mit 20 ccm n-HCl $11,9 - 3,0 \text{ mg} = 8,9$ statt $9,08 \text{ mg} = 98\%$.

Diese Versuche mit Urin zeigen, daß die Umwandlung von Kreatin in Kreatinin in diesem noch schwerer erfolgt, als in wässriger Kreatinlösung. Auch hier scheint die günstigste

Kombination gegeben zu sein bei einem Gehalt von weniger als 0,1 % Kreatin durch Zusatz von der doppelten Menge n-HCl. Dann wurde bei einem Gehalt von 0,09—0,045 % Kreatinin eine Ausbeute von 89—100 % auch bei gründlicher Behandlung mit Alkohol erreicht, in welchem Kreatin ja nur wenig löslich ist. Deswegen sind die Resultate bei höherem Kreatingehalt und vorhergehender Alkoholextraktion viel ungünstigere als ohne dieselbe.

3. Glykocyamin + Kaninchenurin.

Als dritte Reihe von Kontrollversuchen führe ich diejenigen mit Glykocyaminzusatz zum Urin an. Da bei meinen mit Glykocyamin gefütterten Kaninchen das Anhydrid dieser Verbindung, das Glykocyamidin, im Urin eventuell auftreten und die Farbenreaktion mit Pikrinsäure beeinflussen konnte, so mußte ich mich genau von der Größe des möglicherweise entstehenden Fehlers überzeugen.

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß Griffith¹⁾ aus dem Harn von Masernkranken Glykocyamidin dargestellt haben will. Sollte sich dieser unwahrscheinliche Befund bewahrheiten, so könnte auch diese Verbindung im Menschenharn die Folinsche Methode beeinflussen.

Außer Glykocyamidin gibt noch Aceton die Jaffesche Probe, doch habe ich mich stets durch die außerordentlich empfindliche Nitroprussidnatriumreaktion bei Fällen, wo Aceton in Betracht kommen konnte, z. B. beim Hunger, von dessen Abwesenheit überzeugt; und außerdem geht dasselbe als flüchtiger Körper bei Behandlung des Urins mit Salzsäure auf dem Wasserbade fort, so daß in den Gesamtkreatininwerten Aceton gewiß keine Fehlerquelle bildet. Was den Traubenzucker anbelangt, so gibt er die Reaktion erst nach 12 stündigem Stehen in der Kälte ganz schwach, während Lävulose sie deutlicher gibt, doch kommt diese für unsere Versuche nicht in Frage. Ebenso wenig tritt die Reaktion, wie mit Rücksicht auf die Bestimmungen in den Muskeln bemerkt sei, bei Zusatz von Amylum, Glykogen und Inosit in der Kälte auf, wohl aber bei den letzteren

¹⁾ Compt. rend., Bd. CXIV, S. 496—98 u. 1382—84.

in der Wärme. Um den störenden Einfluß, welchen Natronlauge, namentlich bei höherer Temperatur, auf die Färbungen der Lösungen ausüben konnte, zu vermeiden, wurde zu dem mit Salzsäure erhitzten Urin erst Pikrinsäure zugesetzt, dann unter Abkühlung mit Natronlauge neutralisiert, und darauf erst das übrige Quantum NaOH zugefügt. Damit wird zugleich vermieden, daß vor Zusatz der Pikrinsäure in der warmen alkalischen Lösung ein Teil des Kreatinins in Kreatin zurückverwandelt wird.

Die Kontrollversuche konnten sich also auf solche mit Glykocyamin bzw. Glykocyamidinzusatz beschränken.

Das Glykocyamidin läßt sich vom Kreatinin unterscheiden durch die Nitroprussidnatriumreaktion, wie Jaffe¹⁾ und Korndörfer²⁾ angegeben haben, indem der durch das erwähnte Reagens und NaOH entstandene rötliche Farbenton durch Zusatz von etwas Eisessig dunkler rot wird, während Kreatinin völlig entfärbt wird.

Die Reaktion wird am besten folgendermaßen angestellt. Zu 2 ccm der Glykocyamidinlösung werden 5—7 Tropfen einer ca. 5%igen Nitroprussidnatriumlösung zugefügt, dann die entsprechende Tropfenzahl 10%iger NaOH. Nach ca. 1 Minute wird über dem Sparbrenner einer Bunsenflamme leicht auf ca. 25—30° erwärmt, dann abgekühlt und tropfenweise Eisessig unter lebhaftem Umschütteln zugesetzt. Schon nach dem ersten bis dritten Tropfen tritt dunklere Färbung auf, die manchmal in purpurviolett übergeht. Bei den sehr hochgradigen Verdünnungen verschwindet die dunklere Färbung auf Zusatz von mehr Eisessig, läßt sich aber wieder hervorrufen durch Zusatz von NaOH und abermaliges vorsichtiges Versetzen mit Eisessig.

Unter Wahrung dieser Kautelen gab eine Lösung von nicht ganz reinem, nach Korndörfer dargestellten Glykocyamidin,³⁾ dessen Stickstoffgehalt nach Dumas zu 24,8 statt 25,9% gefunden wurde, noch in der Verdünnung von 1 : 15000 die Farbenreaktion.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 439.

²⁾ Arch. der Pharmac., Bd. CCXLII, S. 373.

³⁾ Vollkommene Reindarstellung gelang mir nicht.

Die quantitative Bestimmung mittels der Pikrinsäurereaktion geschah in gleicher Weise wie beim Kreatinin. Die betreffenden Lösungen wurden mit 15 ccm 1,2%iger Pikrinsäure und 5 ccm 10%iger NaOH versetzt und auf 500 ccm nach einiger Zeit mit Wasser aufgefüllt. Dabei ergab sich, daß, mit der $n/2$ -Kaliumbichromatlösung von 8 mm Schichtdicke verglichen, 0,04 g Glykocyamidinlösung eine gleich intensive Färbung zeigten wie 0,021 g Kreatinin bei einer Schichtdicke zwischen 6—10 mm.

In dickerer Schicht ändert sich die Farbennuance der Glykocyamidin-Pikrinsäurelösung gegenüber der Kaliumbichromatlösung außerordentlich, indem die erstere eine viel dunklere rote Färbung annimmt als eine entsprechende Kreatinin- oder Kaliumbichromatlösung. Auch hinsichtlich der Zeitdauer, nach welcher das Maximum der Färbung erreicht wird, verhalten sich Kreatinin und Glykocyamidin verschieden. Während beim Kreatinin nach $1/4$ bis $1/2$ Stunde die Färbung den Höhepunkt erlangt und dann oft wieder abnimmt, steigt bei allen von mir untersuchten Glykocyamidinpräparaten die Intensität der Färbung sehr langsam und kommt erst nach etwa 12 Stunden auf das Maximum, um sich mehrere Tage auf dieser Höhe zu halten. Eine halbe Stunde nach Zusatz von Pikrinsäure und NaOH ergab die kolorimetrische Bestimmung nie eine höhere Färbekraft als 1 : 2, verglichen mit der des Kreatinins, d. h. 20 mg Glykocyamidin zeigten den gleichen Wert wie 10 mg Kreatinin. Obgleich in den später angeführten Versuchen nach dem Ausfall der Prüfung auf Glykocyamidin durch die Nitroprussidprobe eine sehr erhebliche Beeinflussung der kolorimetrischen Kreatininwerte durch Glykocyamidin nicht zu erwarten war, so mußte doch die Intensität der Umwandlung durch Salzsäure genauer festgestellt werden, und dazu diente die folgende Serie von Kontrollbestimmungen.

3. a) Wirkung der Salzsäure auf Kreatin und Glykocyaminumwandlung.

Versuch I. a) 50 ccm Wasser + 0,0658 g trockenes Kreatin entsprechend 56,58 mg Kreatinin 3 Stunden auf dem Wasser-

bad erwärmt, ergaben 45,0 mg Kreatinin statt 56,58 mg = 79,5 %.

b) Dieselbe Kreatinlösung bei Zusatz von 0,1 g Glykocyamin ebenso behandelt, ergab 46,02 mg Kreatinin statt 56,5 mg = 81,3 %.

Versuch II. a) 75 ccm Kaninchenurin ergaben kolorimetrisch 7,13 mg Gesamtkreatinin.

b) 75 ccm desselben Urins + 0,0658 g trockenes Kreatin ergaben nach 4stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade mit 20 ccm n-HCl 64,53 — 7,13 mg = 56,37 statt 56,58 mg = 99,6 %.

Nach 3 stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade mit 20 ccm n-HCl 49,78 — 7,13 mg = 42,65 statt 56,58 mg = 75,3 %.

c) Dieselbe Urinmischung nach Zusatz von 0,1 g Glykocyamin ergab nach 3 stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade mit 20 ccm n-HCl 49,78 mg Kreatinin — 7,13 mg = 42,65 statt 56,58 mg = 75,3 %.

Versuch III. a) Normaler Urin ergab in 100 ccm 24 mg Gesamtkreatinin = 6 mg in 25 ccm Urin.

b) 25 ccm Urin + 25 ccm Wasser mit 0,05 g krystallwasserhaltigem Kreatin versetzt, entsprechend 37,9 mg Kreatinin.

10 ccm davon mit 20 ccm n-HCl 3 Stunden auf dem Wasserbade ergaben einen Kreatiningehalt, auf 50 ccm berechnet, von 43,9 — 6 mg = 37,9 statt 37,9 mg = 100 %.

c) Die gleiche Urinkreatinlösung wie b) + 0,2 g Glykocyamin.

10 ccm davon wie bei b) behandelt, ergaben 46,8 mg Kreatinin — 6 mg = 40,8 statt 37,9 mg = 108 % des zugesetzten Kreatins.

Es kamen also hier 3 mg, auf Kreatinin bezogen, auf Rechnung von Glykocyamidin. Da dasselbe nur den halben kolorimetrischen Betrag liefert, wie das entsprechende Kreatinin, so waren also 6 mg Glykocyamidin vorhanden, d. h. es sind 7,14 mg Glykocyamin verwandelt worden, von den zugesetzten 0,2 g 3,5 % — ein Prozentsatz, der gegenüber dem umgesetzten Kreatin eine geringe Rolle spielt.

Eine weitere Serie von Kontrollversuchen sollte entscheiden, inwieweit die vorherige gründliche Extraktion des abgedampften Urins mit kochendem Alkohol den durch etwaige Verwandlung von Glykocyamin in Cyamidin bedingten Fehler beseitigen kann, weil dies für die Verwertung der später nach Glykocyaminfütterung gefundenen Resultate von Bedeutung ist.

3. b) Salzsäurebehandlung von Glykocyaminurin mit und ohne vorherige Alkoholextraktion.

Probe I. a) 100 ccm normalen Urins ergaben einen Gesamtkreatiningehalt von 32,9 mg.

100 ccm Urin nach der Alkoholbehandlung und nachträglichem Erhitzen mit der doppelten Quantität n-HCl ergaben 30,01 mg.

b) Derselbe Urin + 0,1 g Glykocyamin auf 100 ccm entsprechend 0,0846 g Glykocyamidin.

10 ccm davon, 3 Stunden mit 20 ccm n-HCl erwärmt, ergaben, auf 100 ccm berechnet, 39,85 statt 32,9 mg. Also sind 6,95 mg, d. h. ca. 17% Cyamin verwandelt.

50 ccm desselben Urins zum Sirup eingedampft, mit Alkohol extrahiert, der Alkoholrückstand in Wasser gelöst und mit dem doppelten Quantum n-HCl 3 Stunden erwärmt, ergaben 31,98 mg auf 100 mg berechnet, statt 30,1 mg, d. h. 1,88 mg Glykocyamidin = ca. 4,5% sind umgesetzt.

c) Derselbe Urin + 0,2 g Glykocyamin auf 100 ccm entsprechend 0,177 g Glykocyamidin ergab ohne vorherige Alkoholextraktion 35,3 mg Kreatinin statt 32,9 mg, d. h. 2,4 mg kommen auf entstandenes Glykocyamidin entsprechend etwa 3% des zugesetzten Cyamins.

Die gleiche Mischung nach Alkoholextraktion ergab 30,4 mg Gesamtkreatinin statt 30,1 = 0,3 mg aus Cyamin, d. h. ca. 0,5% verwandelt.

Probe II. a) Normaler Kaninchenurin ergab ohne Alkoholbehandlung 16,3 mg Gesamtkreatinin in 100 ccm.

Desgleichen mit Alkoholbehandlung 13,0 mg Gesamtkreatinin.

b) Zu 100 ccm Urin 0,22 g Glykocyaminzusatz entsprechend

0,186 g Cyamidin. Bei sofortigem 3stündigen Erhitzen mit dem doppelten Quantum n-HCl ergab sich 22,8 mg in 100 statt 16,3 mg, d. h. 6,5 mg Kreatinin sind auf Glykocyamidinentstehung zu rechnen, entsprechend ca. 7% des zugesetzten Glykocyamins.

Bei der gleichen Behandlung nach Alkoholextraktion ergab sich 13,38 mg statt 13,0. Also sind 0,38 mg, d. h. ca. $\frac{1}{2}$ % des zugesetzten Glykocyamins verwandelt.

Das Resultat war also folgendes: Bei Anwesenheit von Glykocyamin im Harn wird ein Teil durch Salzsäure in das Anhydrid verwandelt und beeinträchtigt die Folin'sche Methode etwas. Durch vorausgehende gründliche Extraktion mit Alkohol, durch welchen Kreatin, wenn es nur in kleiner Menge vorhanden ist, nahezu vollständig, Glykocyamin dagegen fast gar nicht gelöst wird, läßt sich dieser Fehler erheblich verkleinern.

Das Ergebnis der gesamten Vorproben sei hier nochmals kurz zusammengefaßt.

1. Zur Umwandlung in Kreatinin wird am besten eine Lösung von etwa 0,1% Kreatin mit der doppelten Menge n-HCl 3—4 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt.

2. Durch Zusatz von Glykocyamin zum Urin, dem zugleich Kreatin zugefügt ist, werden die erhaltenen Kreatininwerte wenig beeinflußt.

3. Die Extraktion mit Alkohol vor dem Erhitzen mit Salzsäure beeinflußt das Resultat der Bestimmungen nicht wesentlich bei einem Prozentgehalt von weniger als 0,1 Kreatin. Bei höherem Prozentsatz an Kreatin fallen die Kreatininwerte nach Extraktion mit Alkohol geringer aus als ohne diese.

4. Die geringen nach Glykocyaminzusatz durch die Entstehung von Glykocyamidin entstehenden Fehler in der kolorimetrischen Bestimmung des Kreatinins können durch vorherige Alkoholextraktion fast völlig beseitigt werden.

5. Der Nachweis von Glykocyamidin mittels der Nitroprussidnatriumprobe läßt sich noch bei einer Verdünnung von 1 : 15 000 führen.

Im folgenden habe ich mich an diese Regeln gehalten, teilweise wurde Alkoholvorbehandlung eingeleitet, teilweise ohne

diese mit Salzsäure erhitzt, mehrfach beide Methoden parallel ausgeführt.

Einfluß der Nahrungsentziehung resp. Verminderung auf die Ausscheidung von Kreatinin und Kreatin.

Zunächst war zu entscheiden, ob Einschränkung oder totale Entziehung der Nahrung auf die Kreatin- bzw. Kreatininausscheidung eines Tieres eine Wirkung ausübe. Diese Frage muß u. a. deshalb erörtert werden, weil die Kaninchen während der Glykocyaminperiode bisweilen weniger, mitunter einen Tag gar nichts fraßen. Bis die Tiere normalerweise bei derselben Nahrung zu gleichmäßiger Kreatininausscheidung kommen, dauert oft lange, und so mußte ich 1—2 Wochen hindurch Vorbestimmungen bei festgesetzter kreatin- und kreatininfreier Nahrung machen. Teils erhielten die Kaninchen Mohrrüben, teils Kartoffeln, andere im Sommer Kohl. Zuletzt habe ich einige täglich mit Milch, die fast völlig kreatininfrei ist, gefüttert, weil ich dadurch von der willkürlichen Nahrungsaufnahme der Tiere völlig unabhängig war, und die Resultate so absolut unbeeinflusst durch Nahrungsenthaltung blieben.

Der Urin wurde jeden Morgen zu gleicher Zeit, soweit er nicht spontan entleert war, abgedrückt, und vom ganzen vorhergehenden Tage gesammelt, so daß die an dem in der Tabelle bezeichneten Tage erhaltenen Urinmengen die Gesamtausscheidung des vorhergehenden Tages bedeuten. Etwaige Nahrungs- oder Fütterungseinflüsse entfalten also ihre Wirkung erst im Urin des folgenden Morgens.

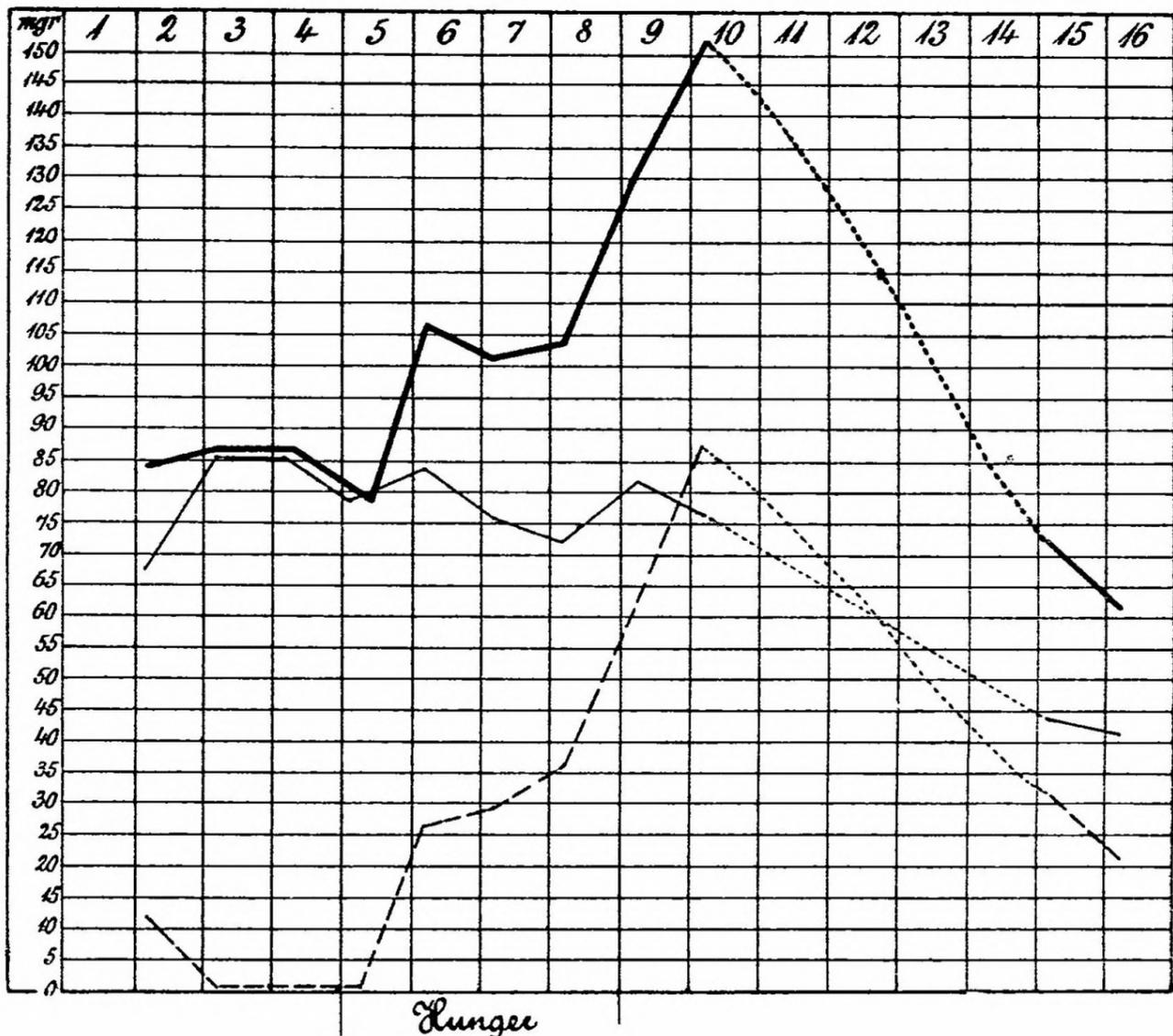
Das Kaninchen des Versuchs I (s. Tabelle I) steht bei Fütterung mit etwas ungleichen Mengen Kartoffeln auf einer ziemlich gleichmäßigen Kreatininausscheidung zwischen 78 und 85 mg pro die und scheidet in der Vorperiode nur an einem Tage 12,1 mg Kreatin aus, was mit dem an diesem Tage ausgeschiedenen Kreatinin eine Gesamtausscheidung von 79 mg ausmacht, also sich in den Grenzen der Vorperiode hält.

Am Morgen des vierten Tages wurde Nahrung und Wasser entzogen. Obwohl die Urinmenge erheblich sinkt und die Reak-

Tabelle I.
Kaninchen. — Hunger.

Tag	Morgens gesammelte Harnmenge ccm	Spezif. Gewicht Reaktion	Tiergewicht g	Nahrung	Stickstoff im Urin g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen
						Kreatinin präformiert mg	Kreatinin gesamt mg	Kreatin mg	
1.	—	—	2193	150 g Kartoffeln	—	—	—	—	
2.	125	1018 alkal.	2113	340 »	—	68,6	79,0	12,1	
3.	135	1017 »	2230	220 »	0,4335	85,3	73,0	?	
4.	162	1012 »	2170	240 »	—	85,1	82,1	?	
5.	155	1014 »	2156	Hunger	0,5316	78,0	78,6	?	
6.	82	1022 »	2045	»	0,604	84,0	106,4	26,0	
7.	55	1026 sauer	1935	»	0,842	75,3	101,2	30,0	
8.	45	1038 »	1835	»	1,244	72,0	104,1	37,2	
9.	53	1037 »	1730	230 g Kartoffeln	1,386	81,6	130,3	56,5	
10.	65	1042 alkal.	1770	den 24. VI. 400 g Grünfutter	1,465	76,8	152,6	87,9	Harn mit Blut gemischt. Am nächsten Tage bekam das Tier einen Blasenpro- laps. Derselbe wurde opera- tiv geheilt und am 15. Tage schied das Tier wieder nor- malen Harn aus.
15.	190	1035 alkal.	1670	800 g Grünfutter	1,492	44,1	72,9	33,4	
16.	360	1029 »	1708	—	1,864	42,5	60,0	20,6	

Kurve I
zu Tabelle I: Hungerversuch.



— Gesamt-Kreatinin. ——— Kreatinin präformiert. - - - - - Kreatin.
Anm.: Vom 10.—14. Tage Bestimmungen unterbrochen, punktierte Kurve.

tion von der alkalischen zur sauren übergeht, tritt doch keine Kreatininvermehrung ein, sondern die Kreatinwerte steigen vom ersten Tage an deutlich auf 25,9 mg, um am vierten Hungertage den Wert von 56,5 mg zu erreichen. Am fünften Tage, als das Tier schon wieder Nahrung erhielt, erhebt sich die Kreatinausscheidung noch mehr. Am zehnten Versuchstage trat ein Blasenprolaps auf, und das Kaninchen wurde außer Versuch gesetzt. Zwei spätere Bestimmungen an dem inzwischen operativ geheilten Tiere ergaben Werte, welche denen der Vorperiode nahe kommen.

Ein zweiter Versuch bei einem Tiere, das hungerte, zeigt ganz ähnliche Verhältnisse. (Tab. II, Kurve 2.)

Über einen dritten Versuch, der den großen Einfluß des Hungers zeigt, sei in der Tabelle III, Kurve 3 (S. 243 u. 244) berichtet.

Tabelle II.
Kaninchen. — Hunger.

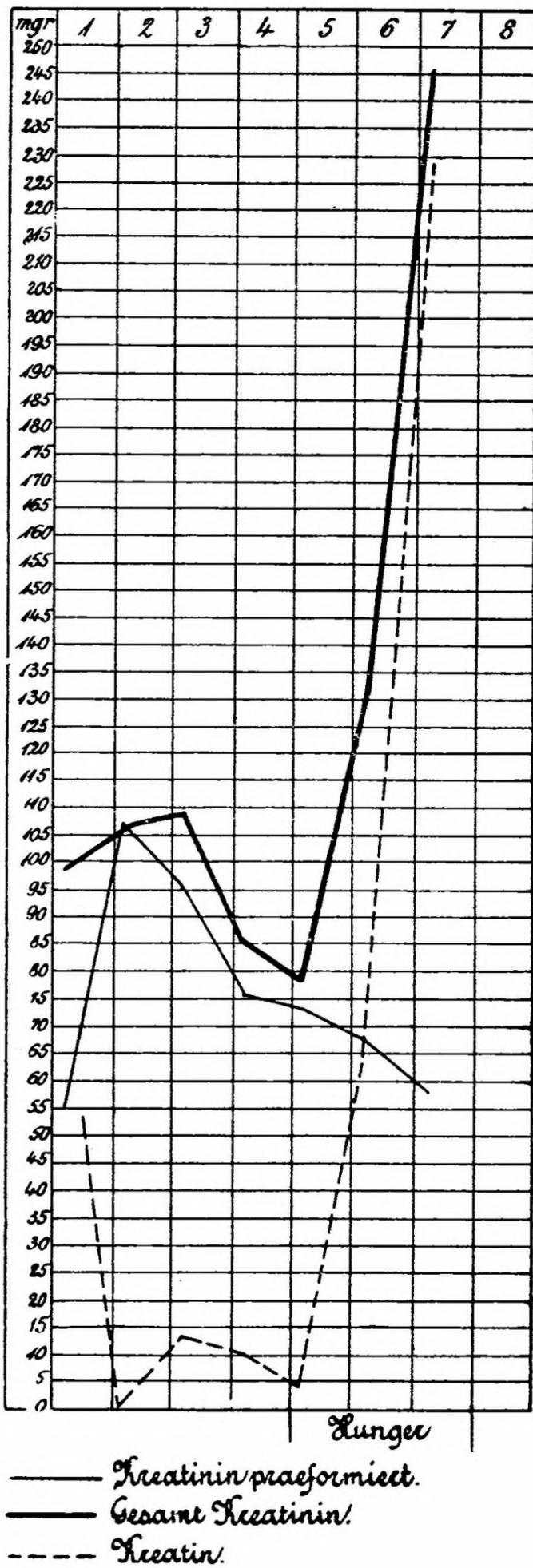
Tag	Urin- menge ccm	Spezif. Gewicht Reaktion	Nahrung	Tier- ge- wicht g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemer- kungen
					Präfor- miertes Krea- tinin mg	Ge- samt- Krea- tinin mg	Krea- tin mg	
1.	360	1012 alkal.	500 g Mohrrüben	2035	55,5	98,2	49,5	
2.	400	1013 alkal.	»	1990	105,9	100,3	?	
3.	400	1011 alkal.	»	2000	95,3	107,0	13,6	
4.	350	1010 alkal.	»	2030	75,8	85,0	10,1	
5.	350	1010 alkal.	Hunger	2054	74,0	78,0	4,6	
6.	190	1020 neutral	»	1840	68,0	133,4	75,9	
7.	200	1021 sauer	»	1635	57,0	240,0	223,9	† abends 6 Uhr

Die erhöhte Kreatinausscheidung beim Hunger setzt erst etwas später ein, als in den früheren Versuchen, steigt aber dann zu ganz enormen Werten.

Ob beim Hunde und Menschen die Verhältnisse beim Hunger hinsichtlich der Kreatinausscheidung ähnlich liegen, wage ich nicht ohne weiteres zu behaupten. Die Versuche von Voit¹⁾ am Hunde lassen keine Gesetzmäßigkeit erkennen bezüglich vermehrter Kreatinausscheidung. Dagegen sezernierten Voits Tiere nach Leimfütterung fast nur Kreatin und beinahe kein Kreatinin, was Voit auf das Alkalisichwerden des Urins bezieht; tatsächlich fand er nach Darreichung von Natriumacetat, wodurch der Hundeharn alkalisiert wurde, den Kreatingehalt gesteigert. Beim Kaninchen übt, wie schon hervorgehoben, die Harnreaktion nur geringen oder gar keinen Einfluß auf das gegenseitige Verhältnis von Kreatin und Kreatinin aus.

¹⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. IV.

Kurve II
zu Tabelle II: Hunger-
versuch.



Für den Menschen liegen eine größere Zahl von Bestimmungen vor. Baldi¹⁾ stellte bei dem Hungerkünstler Succi während 30tägigen Fastens die Kreatininausscheidung nach Neubauer fest und fand, daß nach dem siebzehnten Tage nur noch Spuren davon im Urin vorhanden waren. Baldi hat aber keine Kreatininbestimmungen gemacht. Pietro Grocco²⁾ fand im Hungerzustande nur 0,139 mg Kreatinin beim Menschen.

Van Hoogenhuyze und Verploegh³⁾ bestimmten an der Hungerkünstlerin Toska mittels der Folin'schen Methode die Kreatininwerte und fanden regelmäßige Abnahme während des Hungers. Leider haben sie es jedoch unterlassen, obwohl durch zahlreiche Beobachter⁴⁾ sichergestellt ist, daß auch im Menschenurin Kreatin als solches ausgeschieden werden kann, auf Kreatin zu prüfen.

Vielleicht sind die hohen Werte des Aminosäurenstickstoffs (Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Harnbestandteile), die

¹⁾ Zentralblatt für klin. Medizin, Bd. X, S. 65.

²⁾ Malys Jahresbericht, Bd. XVI, S. 197.

³⁾ l. c.

⁴⁾ Vgl. Folin, Klerker, Koch u. a.

Tabelle III.

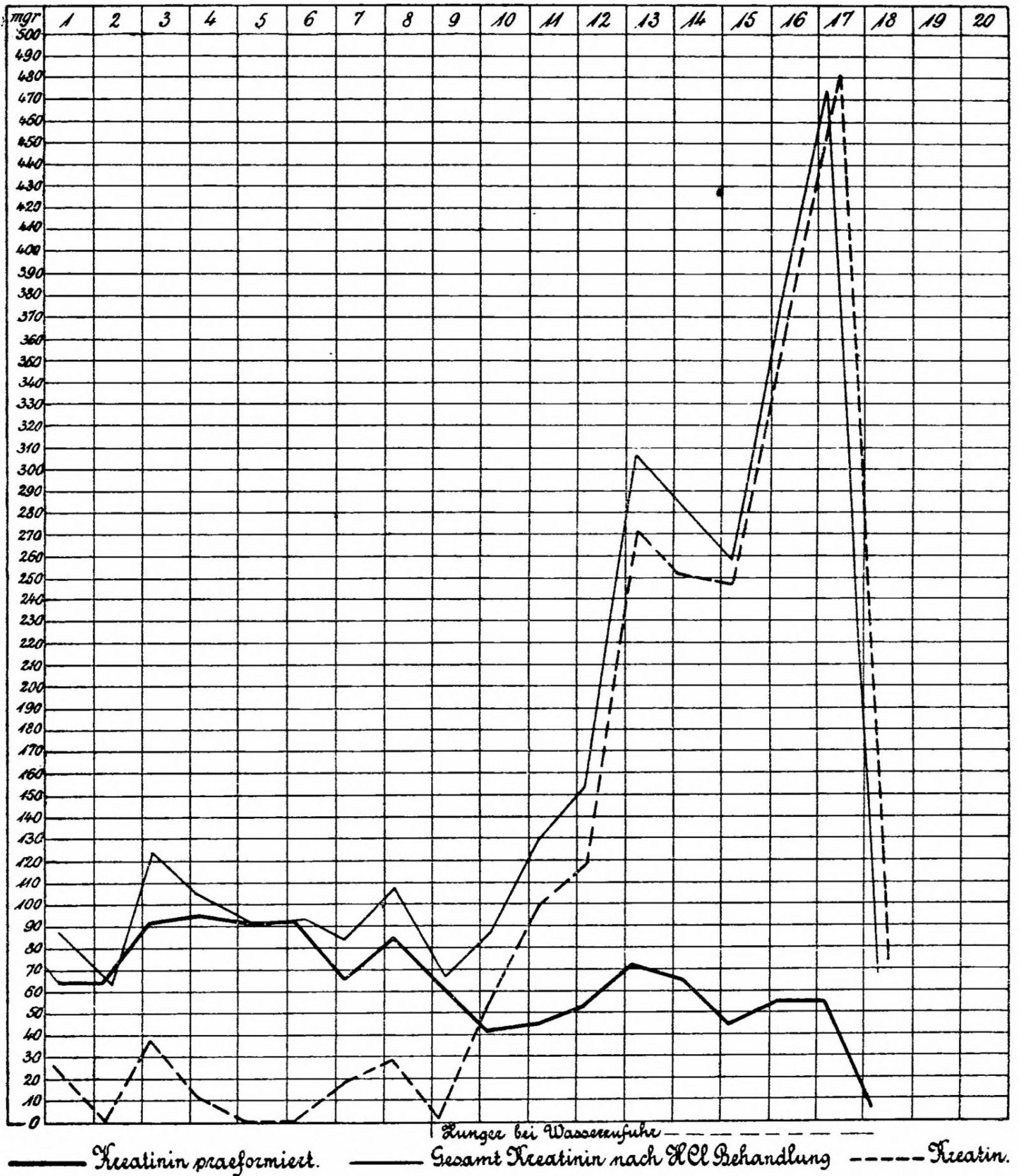
Kaninchen. — Hunger und Wasserzufuhr.

Tag	Morgens gesammelte Urinmenge ccm	Spezif. Gewicht Reaktion	Tiergewicht g	Nahrung	Stickstoff im Urin g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen
						Präform. Kreatinin mg	Gesamt-Kreatinin mg	Kreatin mg	
1.	360	1023 alkal.	2630	600 g Grünfutter	1,058	64,0	88,7	28,7	
2.	375	1024 »	2650	800 »	1,313	64,4	63,8	?	
3.	370	1028 »	2670	400 »	1,917	90,8	124,7	39,3	
4.	300	1027 »	2560	400 »	—	94,5	105,0	12,2	
5.	220	1031 »	2560	400 »	0,607	91,6	89,1	?	
6.	200	1020 »	2568	400 »	1,25	92,0	90,0	?	
7.	150	1032 »	2540	400 »	1,365	67,5	84,0	19,1	
8.	220	1030 »	2530	Hunger	1,339	84,4	108,9	28,4	
9.	75	1031 »	2380	»	0,785	63,6	65,7	2,4	
10.	42	1028 »	2295	»	0,396	40,9	88,5	55,1	100 ccm Wasser
11.	86	1025 »	2230	»	1,086	44,0	130,0	99,8	»
12.	140	1024 »	2130	»	1,597	52,1	155,1	119,5	»
13.	170	1025 »	2017	»	2,677	72,8	306,0	270,5	»
14.	165	1024 sauer	1905	»	2,587	64,8	283,8	254	»
15.	172	1023 »	1805	»	2,285	46,1	259,9	248	»
16.	180	1018 »	1715	»	2,394	54,8	372,6	368,6	»
17.	230	1015 »	1578	»	2,689	54,5	471,5	483,7	» † nachm. 4 Uhr
18.	22	?	1560	»	0,332	6,4	69,5	73,2	Der nach dem Tode abgedrückte Urin

Kein Aceton

Kurve III

zu Tabelle III: Hungerversuch mit Wasserzufuhr.



Brugsch¹⁾ besonders am Ende der Hungerperiode bei Succi erhielt, zum Teil auf eine Kreatinvermehrung zu beziehen.

Im Gegensatz zu den hier angeführten Versuchen, in welchen die Tiere auf vollständiges Hungern gesetzt waren, stehen solche mit teilweiser Nahrungsentziehung (Tab. IV).

¹⁾ Zeitschrift für experimentelle Pathologie und Therapie, Bd. I, S. 419.

Tabelle IV.

Tag	Urin- menge ccm	Tier- ge- wicht g	Nahrung	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen
				Präfor- miertes Krea- tinin mg	Ge- samt- Krea- tinin mg	Krea- tin mg	
1.	196	2260	400 g Rüben	69,5	82,8	15,4	
2.	300	2236	400 g Rüben	69,0	82,0	15,0	
3.	285	2228	310 g Rüben	83,0	83,0	0	
4.	220	2210	Hunger	68,0	64,9	?	200 ccm physiol. Koch- salzlösung
5.	145	2156	110 g Rüben	44,5	51,1	7,6	200 ccm physiol. Koch- salzlösung
6.	220	2135	280 g Rüben	70,0	64,0	?	200 ccm physiol. Koch- salzlösung
7.	360	2120	400 g Rüben	65,0	65,7	0	
8.	300	2128	400 g Rüben	52,0	63,0	12,7	
9.	290	2146	400 g Rüben	61,3	61,3	0	

Bei diesem Kaninchen war bei vorübergehender Nahrungs-entziehung und Einschränkung kein erkennbarer Einfluß auf die Kreatininausscheidung zu beobachten.

Das gleiche Resultat ergibt sich aus einer andern Versuchsreihe, die zunächst andere Fragen entscheiden sollte (s. Tabelle VII Nachperiode).

Kurz können wir die gesamten Ergebnisse dieser Nahrungsversuche dahin formulieren, daß beim Zerfall größerer Mengen Körpereweiß Kreatin im Harn des Kaninchens in steigenden Mengen auftritt.

Auf Grund der durch die angeführten Versuche erhaltenen Kenntnis von dem Einfluß des Hungers auf die Kreatininausscheidung ließen sich die Glykocyaminversuche entscheidender gestalten.¹⁾

¹⁾ Vgl. dazu die Bemerkungen Jaffes, S. 451 seiner Arbeit.

Versuche mit Glykocyamindarreichung.

Es wurde zunächst an Kaninchen, die gleichmäßige Kreatininmengen eliminierten, teils reines Glykocyamin, teils dessen salzsaures Salz verfüttert. Das Präparat war nach dem Verfahren von Nencki und Sieber mit den von Jaffe angegebenen Modifikationen dargestellt. Der Urin eines Tages wurde jedesmal ganz frisch auf präformiertes Kreatinin und auf Gesamtkreatinin verarbeitet. Um den Übergang von Glykocyamin bei dieser Bestimmung zu vermeiden, wurde mehrfach, wie vorher erwähnt, die Alkoholextraktion eingeleitet, d. h. je 50 ccm des Urins wurden zu dickem Sirup eingedampft, viermal mit viel Alkohol kochend extrahiert, die Alkohollösung blieb zur Klärung 12 Stunden stehen; sie wurde abfiltriert und eingedampft. Der Rückstand wurde wieder in 50 ccm Wasser gelöst und 10 ccm der Lösung mit 20 ccm n-HCl 3—4 Stunden erhitzt. Außerdem wurden drei Portionen des Urins bei saurer, alkalischer und neutraler Reaktion eingedampft, dann mit Alkohol extrahiert, der Alkohol verjagt, in Wasser der Rückstand gelöst und direkt ohne Erwärmen mit Salzsäure kolorimetrisch geprüft. Der Rest der gesammelten Urine wurde auf unverändertes Glykocyamin verarbeitet, nach dem von Jaffe angegebenen Verfahren. Da die Tiere öfter während der Glykocyaminperiode Durchfall hatten, der schwächend auf sie wirken mußte und auch für das reine Auffangen des Urins hinderlich war, so wurde in den späteren Versuchen das Glykocyamin in Gummilösung gereicht, welche an sich keinen Einfluß auf die Kreatininausscheidung hat, und dadurch der Durchfall verringert resp. aufgehoben. Der Kot wurde auf Glykocyamin nach der Jaffeschen Methode geprüft, ohne daß es mir gelang, dasselbe daraus zu gewinnen.

Da sich beim Kochen mit Salzsäure der Urin trübte und dunkle Flocken fallen ließ, so wurde der so behandelte Harn abfiltriert und gut nachgewaschen; öfter trat auch noch in dem mit Pikrinsäure und Natronlauge versetzten und auf 500 ccm aufgefüllten Harn ein flockiger Niederschlag (zum Teil Phosphate) auf. In solchen Fällen wurde gleichfalls filtriert, die Flüssigkeit aber erst verwendet, nachdem das Filter dreimal

gefüllt worden war, damit nicht etwa Verluste durch das Verbleiben geringer Farbstoffmengen im Filter herbeigeführt würden. Auf die Eigenfarbe des Urins wurde keine Rücksicht genommen, da sie bei der starken Verdünnung kaum bemerklich war und auch der mit Salzsäure dunkel gefärbte Urin bei der Filtration zum größten Teil entfärbt wurde. Manchmal zeigte der Urin nach der Behandlung mit Salzsäure geringere Kreatininwerte als ursprünglich, ohne daß etwa Aceton vorhanden gewesen war. In solchen Fällen handelte es sich wohl um eine geringe Zerstörung von Kreatinin mittels Salzsäure oder Rückverwandlung in Kreatin, doch sind diese Verhältnisse bisher noch nicht völlig aufgeklärt.

Im ersten Versuch (Tab. V, Kurve IV) bekam das Kaninchen 400—550 g Mohrrüben täglich. Während der Glykocyaminfütterung fraß es weniger, doch zu vollkommenem Hungern kam es bei keinem der Tiere, so daß die Versuchsergebnisse durch diese Einschränkung der Nahrung als unbeeinflusst angesehen werden können, wie vorher gezeigt ist.

Kurve IV
zu Tabelle V: Glykocyaminversuch.

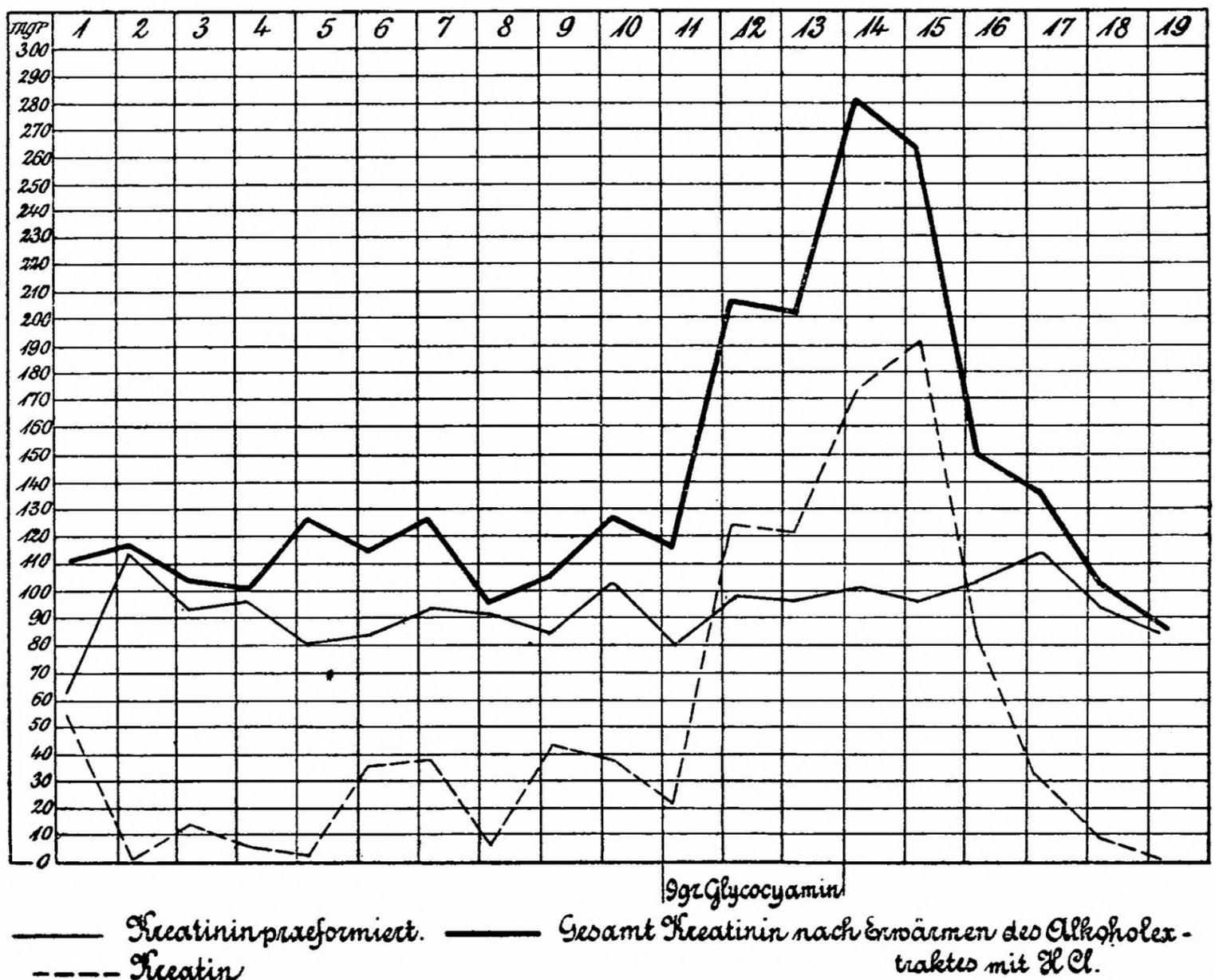


Tabelle V.
Kaninchen.Tabelle V.
Glykocyaminfütterung.

Tag	Morgens gesam- melte Urin- menge ccm	Spez. Gewicht. Reaktion alkalisch	Tier- gewicht g	Nahrung Mohr- rüben g	Kolorimetrische			Bestimmung			Bemerkungen	
					Präfor- miertes Kreatinin mg	Gesamt- Kreatinin mg	Kreatin mg	alkalisch eingedampft. Kreatinin mg	neutral eingedampft. Kreatinin mg	Gesamt- kreatinin mg		
1.	480	1012	2370	400	63,6	111,7	55,8	—	—	—	Der hohe Kreatingehalt ist wohl auf den Übergang von der Hafer- zur Rübenfütterung zu beziehen.	
2.	410	1012	2270	400	113,7	110,0	?	—	—	—		
3.	340	1012	2250	450	93,0	105,0	13,9	86,0	—	105,0		
4.	375	1012	2240	500	95,0	99,5	5,2	88,3	96,1	102,6		
5.	390	1011	2232	500	80,0	83,0	3,5	83,6	82,4	85,8		
6.	370	1011	2215	500	83,3	113,3	34,8	81,7	66,0	115,2		
7.	350	1013	2208	550	93,1	125,7	37,8	—	91,0	128,2		
8.	385	1012	2200	550	90,0	95,6	6,4	59,0	76,0	94,0		
9.	395	1012	2180	550	86,6	122,0	41,0	78,0	83,8	104,0		
10.	440	1011	2185	550	101,0	133,9	38,2	105,0	115,7	126,9		
11.	400	1011	2176	525	79,8	100,0	23,4	78,0	80,0	108,0		Erhält um 10, 2 und 7 Uhr je 1 g mit Soda neutralisiertes salzsaures Glykocyamin in Wasser gelöst per Schlundsonde.
12.	540	1010	2170	300	99,0	206,2	124,35	111,0	197,0	273,9 ¹⁾		Erhält in gleicher Weise 3 g salzsaures Glykocyamin. — Durchfall.
13.	310	1012	2160	230	97,0	201,5	121,2	119,0	232,0	298,0 ¹⁾		Erhält ebenfalls 3 g salzsaures Glykocyamin. — Durchfall.
14.	240	1017	2090	550	100,2	250,0	173,0	140,8	164,4	280,8		
15.	460	1012	2110	550	98,2	262,2	190,2	110,4	—	262,2		
16.	425	1013	2128	550	100,8	170,0	80,3	100,8	102,9	151,0		
17.	450	1010	2080	550	113,8	141,4	32,0	104,0	100,7	136,0		
18.	335	1013	2128	500	94,3	102,6	9,6	83,0	83,0	90,0		
19.	400	1013	2080	500	84,8	84,8	0	65,1	61,8	79,0		

¹⁾ In diesen beiden Fällen war der Urin mit HCl-Zusatz eingedampft worden und ich setze bei der Berechnung statt derselben die ohne Alkoholextraktion gewonnenen Gesamtkreatininwerte, wobei die Filtrate sicher keine Glykocyamidinreaktion gaben.

Die weiterfolgenden Zahlen sind korrekt gewonnen, durch Erwärmen des

und dann mit Alkohol extrahiert. Es sind daher diese Resultate nicht einwandfrei, gewonnenen Gesamtkreatininwerte, wobei die Filtrate sicher keine Glykocyamidinreaktion gaben. nach Alkoholextraktion erhaltenen wässerigen Auszuges mit Salzsäure.

Für die Umwandlung von Glykocyamin in Kreatin lehrt die angeführte Versuchsreihe folgendes:

Gegenüber einer täglichen Gesamtkreatininausscheidung von 94—133 mg in der Vorperiode steigen in der Versuchsperiode die Werte auf 202—281 mg, um im Laufe von drei Tagen allmählich zur Norm zurückzukehren. Vermehrt ist nur das Kreatin, nicht das präformierte Kreatinin.

Nimmt man als täglichen Normalwert des Gesamtkreatinins 112 mg an, so beträgt die Mehrausscheidung während der sechs Tage, die als Versuchsperiode zu rechnen sind, 564,5 mg. Danach wären 584 mg, d. h. 8,5% des verfütterten Glykocyamins im Tierkörper methyliert worden. Dabei ist vorausgesetzt, daß alles Glykocyamin resorbiert wurde, da im Kot nichts aufgefunden werden konnte, und auch der Stickstoffgehalt des Kotes nur eine Vermehrung von 0,11 g auf 0,145 pro die zeigte.

Dem Einwande, daß das Glykocyamin ein Gift sei, durch welches die Muskelsubstanz zum Zerfall gebracht werde, also das ausgeschiedene Kreatin nur aus zerfallener Muskelsubstanz stamme, können wir durch den Hinweis auf die geringe Körpergewichtsabnahme des Tieres begegnen; dasselbe verlor während der Vorperiode in 12 Tagen 200 g und in den sechs Tagen der Versuchsperiode 100 g. Immerhin war es wünschenswert, auch mit Rücksicht auf die gleichartigen Folgen der Glykocyaminfütterung und der Inanition auf die Kreatinausscheidung den Einwand eines gesteigerten Gewebszerfalles mit aller Sicherheit zu widerlegen. Es wurden daher in den folgenden zwei Versuchen Stickstoffbestimmungen gemacht. Bei einem zu exakten Stoffwechselversuchen so ungeeigneten Tiere, wie dem Kaninchen, bezwecken diese Bestimmungen nur auszuschließen, daß eine Mehrausscheidung von Stickstoff stattgefunden habe, welche nicht durch den im Glykocyamin zugeführten Stickstoff gedeckt, und welche also notwendig auf Zerfall von Körpereiweiß zurückzuführen wäre.

Auch im zweiten Versuch (Tab. VI und Kurve V, S. 251 und 252) ist die Mehrausscheidung von Kreatin nach der Glykocyaminfütterung, deren Wirkung bis zum sechsten Tage anhält, sichergestellt.

Ich verzichte darauf, aus den Stickstoffausscheidungen in Kot und Harn eine Berechnung über die resorbierte Glykocyaminmenge anzustellen, da eine solche mit zu vielen Unsicherheiten behaftet sein dürfte. Die beträchtliche Stickstoffvermehrung im Kot ist wohl zum Teil auf den Durchfall zu beziehen, zum Teil vielleicht darauf, daß in diesem Falle nicht alles Glykocyamin resorbiert wurde, wenn auch die Isolierung der Substanz aus den Exkrementen nicht gelang.

Die gesamte Mehrausscheidung an Gesamtkreatinin betrug 337 mg entsprechend 349 mg Glykocyamin. Es wären also unter der, für meine Folgerung sicher zu ungünstigen Annahme, daß alles Glykocyamin resorbiert war, 4,64% im Tierkörper methyliert worden. Für einen Mehrzerfall von Körpereiweiß läßt sich aus den Stickstoffbestimmungen im Urin kein Anhaltspunkt gewinnen.

Kurve V
zu Versuch VI, Glykocyaminversuch.

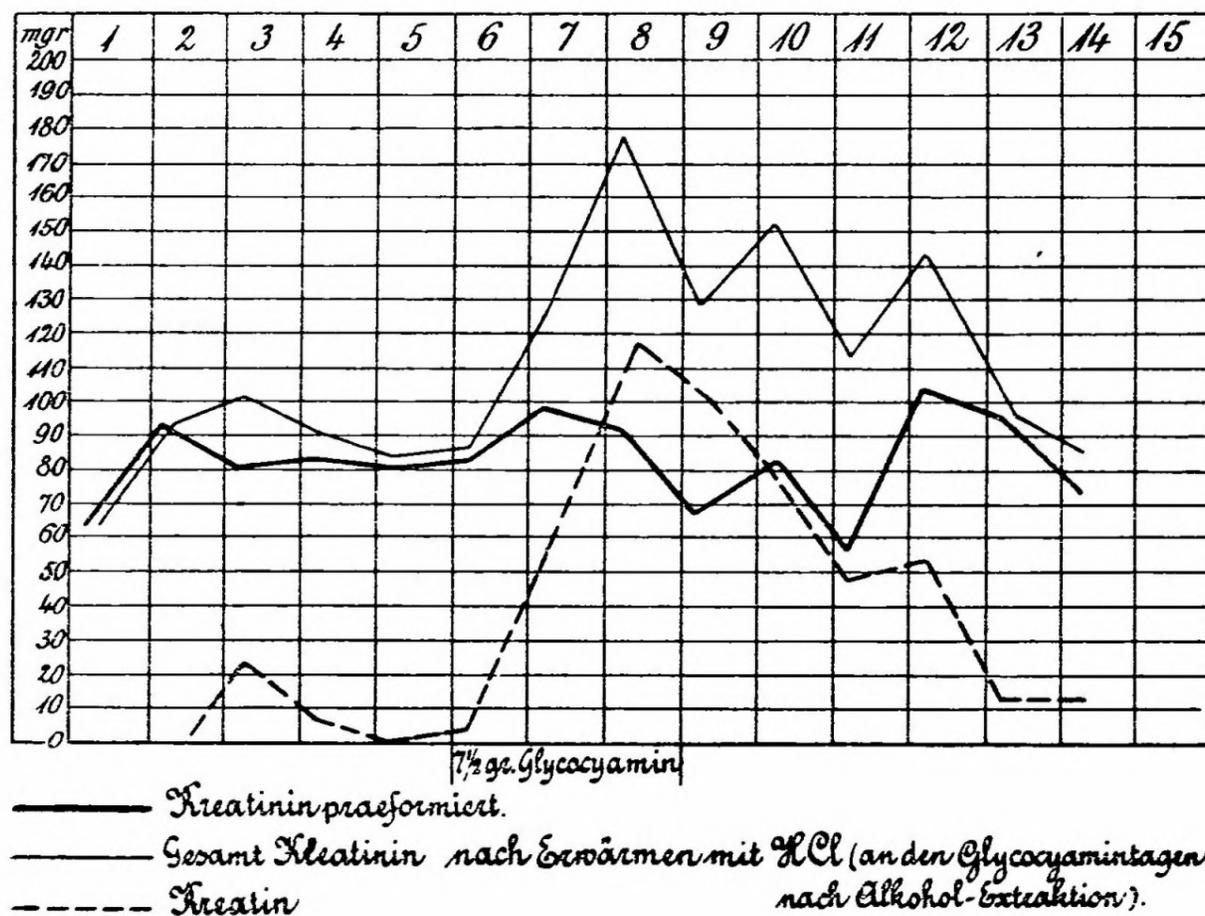


Tabelle VI.
Kaninchen von Versuch V. — Glykocyaminfütterung.

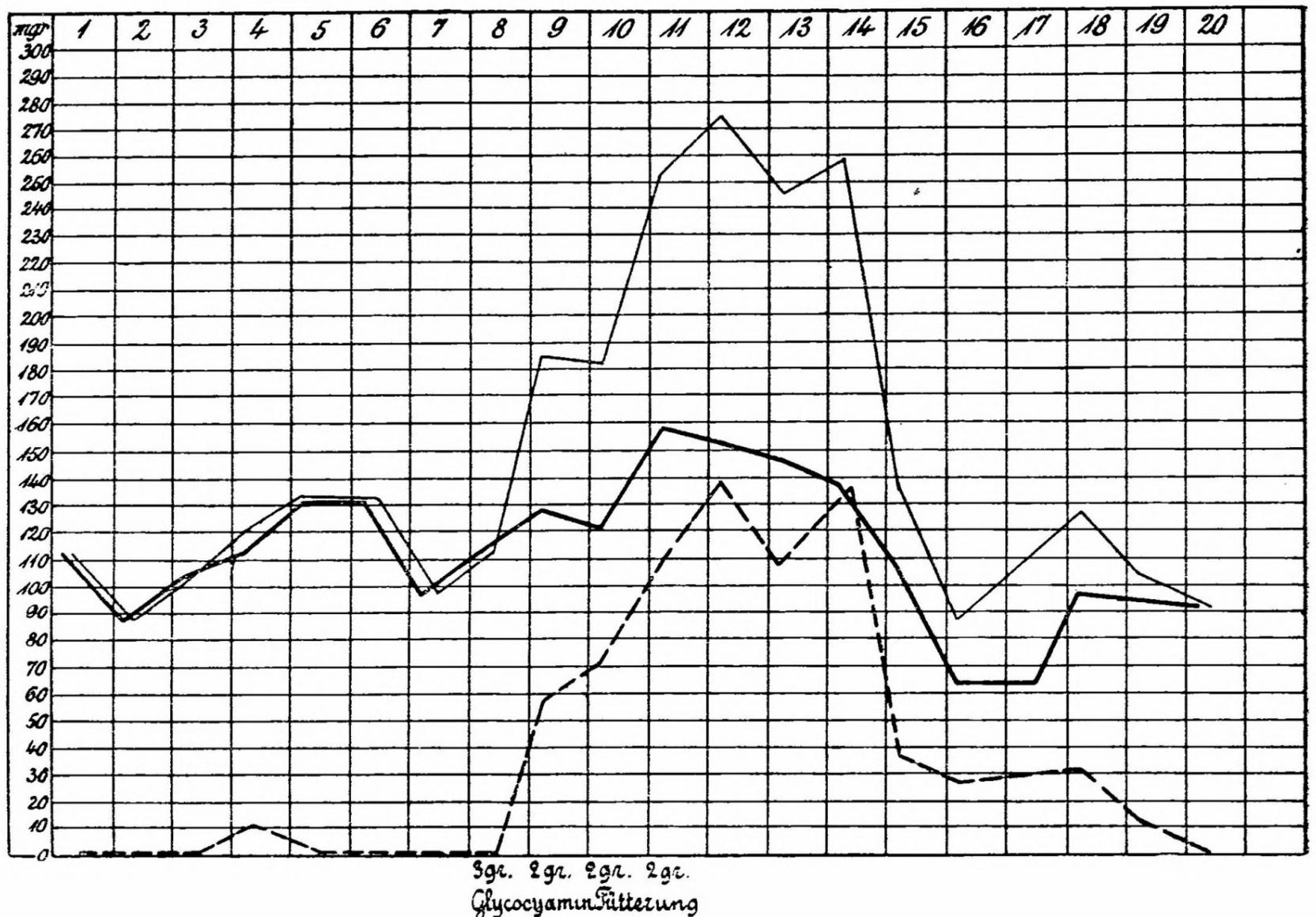
Tag	Morgens gesam- melte Urin- menge ccm	Spezif. Gewicht. Reaktion alkalisch	Tier- gewicht g	Nah- rung Mohr- rüben g	Stickstoff im Urin g	Stickstoff im Kot g	Kolorimetrische Bestimmung						Bemerkungen
							Kreatinin		Kreatin mg	Alkoholextraktion des Urins			
							präfor- miert mg	gesamt mg		Urin alkali- sch ein- gedampft präfor- miert mg	Kreatinin Urin neutral ein- gedampft		
präfor- miert mg	gesamt mg	Kreatin mg	präfor- miert mg	gesamt mg	gesamt mg								
1.	400	1011	2040	500	0,604	0,1089	62,5	62,5	0	46,5	53,2	59,4	
2.	405	1011	2037	500	0,652	0,1089	93,0	93,0	0	58,7	80,0	86,2	
3.	400	1009	2040	500	0,868	0,1089	80,3	101,6	24,7	73,8	83,7	82,0	
4.	440	1009	2020	500	0,712	0,1089	83,2	90,8	8,8	47,0	50,0	78,0	
5.	425	1011	2013	500	0,852	0,1089	81,0	79,0	?	82,6	88,0	82,0	
6.	390	1011	2040	500	0,627	0,1089	82,2	84,8	3,0	71,7	70,0	79,1	3 g Glykocyamin innerlich.
7.	620	1009	2008	500	0,825	0,1848	99,0	146,9	55,6	100,0	89,7	127,9	2 g Glykocyamin innerlich. Durchfall.
8.	550	1010	1990	500	0,925	0,1848	90,8	192,5	118,0	98,8	124,0	176,7	2 1/2 g Glykocyamin innerlich. Durchfall.
9.	450	1010	1996	500	0,929	0,345	67,0	154,0	101,0	79,5	102,0	129,5	Durchfall.
10.	415	1010	1995	500	1,353	0,505	82,7	verloren	—	100,0	168,0	152,0	
11.	360	1012	2035	500	0,856		55,5	98,2	49,5	65,1	80,4	114,3	
12.	400	1013	1990	500	0,730	Kein	105,0	149,0	51,7	85,1	122,3	145,2	
13.	400	1011	2000	500	0,742	Kot	95,0	107,0	13,9	86,5	86,1	95,3	
14.	350	1010	2030	500	0,575		75,0	85,0	11,6	63,0	69,0	64,0	

Tabelle VII.

Kaninchen. — Glykocyaminfütterung.

Tag	Morgens gesammelte Urinmenge ccm	Spezif. Gewicht Reaktion alkalisch	Nahrung Grünfutter g	Stick- stoff im Urin g	Tier- ge- wicht g	Kolorimetrische Bestimmung				Kreatin mg	Bemerkungen
						Kreatinin präfor- miert mg	ge- samt mg	Alkoholextraktion Urin neutral eingedampft Kreatinin präformiert mg	gesamt mg		
1.	310	1023	800	1,365	2780	112,0	112,0	—	—	0	
2.	400	1024	800	1,624	2810	88,4	88,0	—	—	?	
3.	375	1021	800	1,612	2790	104,9	102,6	—	—	?	
4.	365	1020	800	1,635	2690	111,5	120,6	—	—	10,4	
5.	380	1027	800	1,914	2695	130,3	133,0	—	—	3,1	
6.	420	1027	800	2,08	2665	130	107,0	—	—	?	
7.	320	1027	800	1,5	2635	96	92,8	—	—	?	
8.	400	1028	740	1,96	2620	113,2	113,0	—	—	?	
9.	525	1021	450	2,389	2645	127,6	157,5	130,0	187,9	69,9	3 g Glykocyamin
10.	270	1025	450	1,153	2700	120,0	218,8	120,0	181,0	70,4	2 » per os
11.	345	1022	600	1,829	2720	158,0	274,7	147,0	251,8	109,0	2 » in Gummilösung
12.	450	1023	600	1,984	2750	154,8	324,0	158,7	274,0	138,2	2 »
13.	350	1028	700	1,984	2706	147,7	218,2	140,0	244,3	112,0	
14.	415	1024	730	1,946	2660	139,4	291,1	139,4	258,5	138,0	
15.	330	1031	800	—	2740	107,5	154,8	112,3	139,9	37,5	
16.	360	1023	600	1,058	2630	64,0	88,7	63,7	87,0	26,7	
17.	375	1024	800	1,312	2650	64,0	64,0	—	—	0	
18.	370	1028	400	1,916	2670	97,8	124,7	—	—	31,2	
19.	300	1027	400	—	2560	94,5	105,0	—	—	12,8	
20.	220	1031	400	0,607	2560	92,0	91,0	—	—	?	

Kurve VI
zu Tabelle VII, Glykocyamin in Gummilösung.



— Kreatinin präformiert. — Gesamt-Kreatininausscheidung. (Während der Glykocyaminfütterung gelten die Alkoholwerte.)
 - - - - - Kreatin.

Der dritte Versuch (Tab. VII u. Kurve VI) gab von allen das eklatanteste Resultat, zum Teil wohl, weil das Versuchstier kräftiger als das frühere war, zum Teil, weil bei Verabreichung des Glykocyamins in Gummilösung der Durchfall ganz ausblieb. Aus dem Kot wurde kein unverändertes Glykocyamin zurückgewonnen, aus dem Harn im ganzen 0,1 g.

Die Mehrausscheidung an Gesamtkreatinin betrug 727,3 mg entsprechend 752,7 mg Glykocyamin, d. h. 8,36% des verabreichten, wurden methyliert. Die Vermehrung des Gesamtkreatinins wird hier nicht allein durch Kreatin bestritten, sondern auch die Ausscheidung des präformierten Kreatinins zeigt einen mäßigen Anstieg. Derselbe entspricht insofern dem Verhalten des Tieres in der Vorperiode, als bei diesem im Gegensatz zu den meisten andern Kaninchen nur ein einziges Mal Kreatin

im Harn gefunden wurde. Ob für dieses verschiedene Verhalten der Tiere ein Kreatin in Kreatinin verwandelndes Ferment von Bedeutung ist, wie es beim Pferde von Gérard¹⁾ und Nicola²⁾ in der Niere beobachtet wurde, kann ich auf Grund eigener Erfahrungen nicht entscheiden.

Die mittels der Folinschen Methode unter den nötigen Kautelen angestellten Versuche bestätigen also die von Jaffe mittels der von ihm modifizierten Chlorzinkmethode nach Glykocyaminfütterung gewonnenen Resultate. Die Prozentsätze des methylierten Glykocyamins stimmen auch ziemlich mit den seinigen überein; Jaffe fand in fünf Versuchen einen Übergang von 9,5%, 12,7%, 7,1%, 6,4%, 4,5% Glykocyamin in Kreatin, in meinen drei Versuchen betragen die prozentischen Werte 4,64%, 8,5% und 8,3%.

Bei der Folinschen Methode können geringe Mengen von Glykocyamidin, die durch die Nitroprussidprobe nicht mehr angezeigt werden, einen kleinen Fehler bedingen, der indessen, wie oben ausgeführt ist, für das Gesamtergebn kaum in Betracht kommt. Bei der Folinschen, wie bei der Jaffeschen Methode ist mißlich die Spaltung mittels Salzsäure, die nicht genau übereinstimmende Werte gibt und öfter bei genau gleicher Behandlung von zugesetzten Kreatinmengen in einem Falle 100%, ein andermal nur 80% angibt. Es sind also die in der Arbeit angeführten Resultate nicht als absolute zu betrachten, sondern relativ zu nehmen, d. h. eventuell mit einem Fehler bis zu 20% behaftet, der aber nur zugunsten der aus den Versuchen erschlossenen Methylierung des Glykocyamins ins Gewicht fällt.

Glykocyaminversuche an Fröschen.

Ich prüfte weiterhin, ob sich nicht bei andern Tieren nach Glykocyamindarreichung ein ähnliches Verhalten konstatieren ließ, und wählte dazu Frösche, weil dieselben normalerweise im Harn nahezu kein Kreatin oder Kreatinin ausscheiden.

¹⁾ Compt. rendus, Bd. CXXXII, S. 153.

²⁾ cit. nach Maly, Jahresber. der Tierchemie, Bd. XXXV, S. 406.

Allerdings war vorauszusehen, daß bei dem sehr langsamen Stoffwechsel der Frösche deutliche Resultate nur schwer zu erhalten sein würden, und diese Annahme bestätigte sich auch. Das Experiment wurde folgendermaßen angestellt:

20 Fröschen wurde die Kloake unterbunden und 10 Tieren geringe Mengen Glykocyamin in den Rückenlymphsack injiziert. Bei einem Frosche, der eine höhere Dosis erhalten hatte, traten Krämpfe auf, doch erholte er sich wieder, die andern wurden leichter reizbar als die Kontrollfrösche.

Der Urin der Tiere wurde nach mehreren Tagen gesammelt. Ich erhielt im ganzen von jeder Serie ca. 80 ccm eines klaren Harns (spezifisches Gewicht 1001—1003), der etwas eiweißhaltig war, besonders bei den Versuchstieren. Der Urin wurde auf ein kleines Volumen bei schwach essigsaurer Reaktion eingedampft. In diesen Portionen wurde auf Kreatinin mittels der Nitroprussidnatrium- und der Pikrinsäurereaktion geprüft. Der Urin der Glykocyamintiere zeigte mit beiden Reagenzien bei Zusatz von NaOH deutliche Rotfärbung, während der Kontrollharn nur schwach rötlich, öfter nur gelblich wurde.

Die Rotfärbung des Glykocyaminurins war aber doch nie so intensiv, daß eine quantitative Bestimmung sich damit gelohnt hätte.

Auf Essigsäurezusatz entfärbten sich beide Portionen in ganz gleicher Weise. In einem Falle allerdings trat bei Zusatz von Eisessig im Glykocyaminurin geringe Dunklerfärbung auf, so daß bei diesem Versuch die Rötung mit Nitroprussidnatrium und NaOH nichts bewies.

Aus dem Harn der behandelten Tiere konnte noch nach acht Tagen Glykocyamin in Krystallen gewonnen werden, so daß also bei Fröschen der Methylierungsvorgang von Glykocyamin zu Kreatin, wenn er überhaupt statt hat, was nach dem Ausfall der qualitativen Proben wahrscheinlich ist, nur äußerst langsam und unvollständig eintritt.

Die Frage, in welchen Organen die Methylierung von Glykocyamin zu Kreatin stattfindet, hat Jaffe schon durch seine Untersuchungen des Muskelkreatins nach Glykocyaminfütterung

zu beantworten gesucht, und es ergab sich in drei Fällen von vier Versuchen eine relative Kreatinvermehrung der Muskeln, verglichen mit den Befunden an einem gleich schweren Kontrolltier. Wenn es hiernach wahrscheinlich ist, daß in den lebenden Muskeln die Methylierung stattfindet, so ist es nicht ausgeschlossen, daß auch im Reagenzglas Muskeln bei der Autolyse aus Glykocyamin Kreatin bilden. Diese Frage suchte ich in einer Reihe von Versuchen zu beantworten.

Verhalten des Glykocyamins bei der Autolyse von Muskeln.

Die Anordnung war folgende: Einem eben gestorbenen oder frisch getöteten Kaninchen wurde die gesamte Muskulatur sauber abpräpariert, in der Hackmaschine zerkleinert und gewogen.

In 100 g wurde sofort der Kreatinin- und Kreatingehalt nach Folin bestimmt. Der Rest wurde zu je 100 g in gleichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und einem Kolben eine gewogene Menge pulverisierten Glykocyamins zugesetzt. Die Proben wurden in der Schüttelmaschine zwei Stunden geschüttelt, mit Toluol versetzt, im Brutofen bei 37° 4—7 Tage stehen gelassen und dann verarbeitet.

Die Bestimmungen der uns interessierenden Fleischbasen wurden folgendermaßen ausgeführt: Die geschüttelten Muskelmassen wurden nach Zusatz von ca. 100 ccm Wasser ausgepreßt, dann nach erneutem Wasserzusatz aufgeköcht und abermals in der Presse ausgequetscht. Dieses Verfahren wurde noch zweimal wiederholt, bis im Filtrate keine Spur von Kreatin mehr nachzuweisen war, wozu das fünfte Filtrat auf ein kleines Volumen sauer eingedampft wurde. Vier Extraktionen genügten stets.

Die vereinigten Filtrate wurden auf ein angemessenes Volumen eingedampft und sofort ein aliquoter Teil nach Folin bestimmt. Ein anderer Teil wurde mit der doppelten Quantität n-HCl gespalten, und wenn die Glykocyamidin-Nitroprussidprobe, bei den dafür in Betracht kommenden Filtraten, negativ ausfiel, gleichfalls kolorimetrisch bestimmt.

Schon Voit¹⁾ hatte seinerzeit nachgewiesen, daß bei längerem Stehen Harn und Fleisch seinen Kreatiningehalt verändert, und daß bei Fäulnis ein Teil sowohl des Kreatins als auch des Kreatinins zerstört wird. Trotz des Toluolzusatzes trat in einigen der Autolyse überlassenen Muskelportionen geringe Fäulnis ein, was bisweilen am Geruch zu erkennen war, aber auch ohne wahrnehmbare Fäulnis war der Kreatiningehalt manchmal nach der Autolyse stark gesunken. Ich fügte daher später zur Vermeidung dieser Übelstände schon beim Zerkleinern des Fleisches etwas Toluol hinzu, ohne daß die Resultate dadurch beeinträchtigt wurden,²⁾ wogegen Fäulnis ausblieb.

Die von mir erhaltenen Werte des präformierten Kreatinins in den Muskeln sind nicht ganz einwandfrei, da die Extrakte gekocht und bei neutraler Reaktion eingedampft waren, bevor die Bestimmung stattfand, somit, wie vorher gezeigt ist, eine teilweise Verwandlung von Kreatin in Kreatinin oder umgekehrt hat stattfinden können, worauf schon Nawrocki³⁾ aufmerksam gemacht hat. Ich betone das nur, weil alle bisherigen Kreatininbestimmungen im Muskel danach auf absolute Genauigkeit keinen Anspruch haben. Wenn man sichere Kenntnis über den Kreatiningehalt eines Muskels haben will, muß man ihn kalt mit Wasser extrahieren und dann im Filtrat kolorimetrisch direkt den Kreatiningehalt bestimmen.

Ich führe trotzdem die hier gewonnenen Kreatininwerte an, da dieselben mit den früher mittels der Chlorzinkmethode erhaltenen wohl verglichen werden können.

Versuch I. Normales Kaninchen, 1700 g schwer, getötet.

- a) 100 g Muskeln sofort bearbeitet, ergaben:
- 0,153 g präformiertes Kreatinin.
- 0,456 g Gesamtkreatinin.

¹⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. IV, S. 134.

²⁾ Vgl. dazu die Ausführungen von Grober (Pflügers Archiv, Bd. CIV) und Laqueur (Archiv f. experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. LV, S. 240).

³⁾ Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. IV.

b) 100 g Muskeln unter Toluolzusatz 7 Tage im Brutschrank (kein Fäulnisgeruch) ergaben:

0,074 g präformiertes Kreatinin.

0,241 g Gesamtkreatinin, also eine sehr erhebliche Abnahme gegenüber dem ursprünglichen Gehalt, ohne nachweisbare Fäulnis.

c) 100 g Muskeln wie bei b) + 1,0 g Glykocyamin ergaben:

0,27 g präformiertes Kreatinin.

0,532 g Gesamtkreatinin.

Es wären demnach, wenn ich den ursprünglichen Kreatiningehalt zugrunde lege, 0,076 g Kreatinin neu gebildet; vergleiche ich dagegen die beiden 7 Tage im Brutschrank unter sonst gleichen Bedingungen autolysierten Präparate, so wäre 0,291 g Kreatinin aus Glykocyamin entstanden. Dieser letzte Schluß scheint mir aber nicht zulässig. Betrachten wir die kleinste Zahl als richtig, so sind immerhin 7,8% des zugesetzten Glykocyamins methyliert worden.

Versuch II. Kaninchen, 2500 g, Grünfutter, wird getötet. Gesamtmuskulatur 620 g wird in der gewohnten Weise verarbeitet.

a) 200 g Fleisch sofort bestimmt, im ganzen 280 ccm Flüssigkeit, ergaben:

0,17 g Kreatinin präformiert d. h. 0,085%.

0,8568 g Gesamtkreatinin = 0,428%.

b) 200 g Muskeln nach einer Woche unter Toluol im Brutschrank (unzersetzt).

0,731 g Gesamtkreatinin = 0,365%.

c) 200 g Muskeln + 2 g Glykocyamin wie bei b) behandelt (schwacher Fäulnisgeruch), ergab:

0,873 g Gesamtkreatinin = 0,4365%,

keine Glykocyamidinreaktion.

Zurückgewonnen wurden 0,45 g Glykocyamin.

In diesem Falle war also, obwohl geringe Zersetzung eingetreten war, der Gesamtkreatiningehalt bei Glykocyaminzusatz dem der frischen Muskeln gleich geblieben, was mit großer Wahrscheinlichkeit auf Neubildung von Kreatin schließen läßt; denn daß das Glykocyamin nicht etwa die Zerstörung

des Kreatins durch Fäulnis hindert, zeigt ein anderer Versuch, in dem trotz Glykocyaminzusatzes deutliche Verminderung im Gehalt der genannten Fleischbasen eintrat.

40 g Muskeln mit 0,5 g Glykocyaminzusatz ergaben nach 8 Tagen 0,054 g Gesamtkreatinin = 0,135 ‰, während sich bei sofortiger Verarbeitung der frischen Muskulatur 0,086 g Gesamtkreatinin in 40 g Muskelsubstanz entsprechend einem Prozentsatz von 0,215 ‰ ergeben hatte.

Der außerordentlich niedrige Normalwert erklärt sich durch die Jugend und Kleinheit dieses Tieres — es wog ca. 1000 g — worauf ich später zurückkommen werde.

Versuch III. Zu diesem Versuche wurde die Muskulatur des Hungerkaninchens verwandt. Vgl. Tabelle III (S. 243). Das Tier wog beim Tode 1550 g, davon wurden 330 g Muskulatur gewonnen.

a) 100 g frisch verarbeitet, ergaben:
0,356 g Gesamtkreatinin.

Es war also im Verhältnis zu den beiden ersten Versuchen die Muskulatur kreatinärmer, was vielleicht auf den Hungerzustand zurückzuführen ist (vgl. dazu die Ausführungen Klerkers).¹⁾

b) 100 g derselben Muskulatur 4 Tage im Brutschrank unter Toluol gaben:

0,357 ‰ Gesamtkreatinin.

Also genau die gleiche Zahl, wie vorher. Es hatte keine Zersetzung stattgefunden.

c) 100 g Muskulatur + 1,0 Glykocyamin wie b) behandelt = 0,445 ‰.

Dieses Filtrat gab aber geringe Glykocyamidinreaktion nach Jaffe.

Das Erhitzen mit Salzsäure wurde in geringerer Konzentration derselben wiederholt und gab dann nur 0,334 ‰ Gesamtkreatinin bei negativem Ausfall der Nitroprussidprobe.

Es war also in diesem Falle eine Vermehrung nicht zu konstatieren. Ob dies auf Schädigung der Muskulatur durch

¹⁾ Zeitschrift für Biochemie, Bd. III, S. 45.

Hunger beruht, ist natürlich nicht durch einen Versuch zu entscheiden.

Versuch IV. Zwei große Kaninchen, die zu andern Zwecken mit Kumarin vergiftet waren, hatten Rüben und Hafer gefressen.

Die gesamte Muskulatur wurde gemeinsam verarbeitet.

a) 100 g gaben:

0,0806 ‰ präformiertes Kreatinin.

0,428 ‰ Gesamtkreatinin.

b) 100 g 4 Tage unter Toluolzusatz im Brutschrank ergaben:

0,1708 ‰ präformiertes Kreatinin.

0,414 ‰ Gesamtkreatinin.

c) 100 g Muskein + 0,5 g Glykocyamin wie bei b) behandelt, ergaben:

0,153 ‰ präformiertes Kreatinin.

0,405 ‰ Gesamtkreatinin.

d) 100 g + 1,0 g Glykocyamin wie bei b) behandelt, gaben:

0,08 ‰ präformiertes Kreatinin.

0,524 ‰ Gesamtkreatinin.

Keine Glykocyamidinreaktion.

Es waren also anscheinend etwa 9,9 ‰ des zugesetzten Glykocyamins methyliert.

Versuch V. 2 Kaninchen an Kumarin gestorben, je ca. 2500 g schwer. Rüben und Haferfütterung.

a) 100 g Muskeln zeigten:

0,146 ‰ präformiertes Kreatinin.

0,435 ‰ Gesamtkreatinin.

b) 100 g Muskeln + 0,5 g Glykocyamin 4 Tage im Brutofen ergaben:

0,138 ‰ präformiertes Kreatinin.

0,489 ‰ Gesamtkreatinin.

0,489 ‰ Gesamtkreatinin nach vorheriger Alkoholextraktion.

Das Filtrat gab keine Glykocyamidinreaktion, also ca. 11,2 ‰ des zugesetzten Glykocyamins methyliert.

c) 100 g Muskeln + 1,0 g Glykocyamin wie bei b) behandelt. Filtrat 260 ccm gab keine Glykocyamidinnitroprussidprobe, auch nicht nach Erhitzen mit dem doppelten Volumen Salzsäure.

Es war vorhanden:

0,165% präformiertes Kreatinin.

0,500% Gesamtkreatinin.

0,514% Gesamtkreatinin nach Alkoholextraktion und darauf folgendem Erhitzen mit Salzsäure.

Also ca. 6,6 bis 8,2% methyliert.

Versuch VI. Kaninchen nach Methylguanidindarreicherung gestorben (vgl. Tabelle IX). Milchdiät. Junges Tier.

a) 100 g Muskulatur, sogleich verarbeitet, ergaben:

0,106% präformiertes Kreatinin.

0,252% Gesamtkreatinin.

b) 100 g + 1,0 g Glykocyamin 4 Tage im Brutschrank ergaben:

0,111% präformiertes Kreatinin.

0,338% Gesamtkreatinin.

0,300 g Gesamtkreatinin nach Alkoholbehandlung.

Keine Glykocyamidinreaktion.

Also ca. 4,9% des zugesetzten Glykocyamins methyliert.

Bei diesem jungen Tiere fällt der auffallend niedrige Gesamtkreatininwert der normalen Muskulatur sogleich auf, und es fragte sich, ob dies vielleicht auf der Milchdiät und einem durch dieselbe bedingten größeren Wassergehalte der Muskeln beruht, denn daß die vorausgegangene Methylguanidindarreicherung Muskelkreatinin zum Verschwinden bringt, ist nach dem Resultate des unten folgenden Versuchs unwahrscheinlich.

Es wurde daher ein gleich schweres junges Kaninchen 8 Tage auf Milchdiät gesetzt und dann die Muskulatur auf Wassergehalt und Kreatin untersucht.

Der Wassergehalt betrug 75,9%, das Gesamtkreatinin 0,308%.

Ein zweites Tier, das mit Hafer ernährt war, 1600 g schwer, erhielt zwei Tage lang Milch, so daß also noch keine genügende Auswaschung der Muskulatur hatte stattfinden können

(wenn man sich die Wirkung der Milchfütterung so erklären wollte).

Die Bestimmung ergab:

0,306% Gesamtkreatinin und 72% Wassergehalt.

Die Wasserwerte stimmen einigermaßen mit den von Jaffe und auch Voit erhaltenen überein (Voit fand 79—81%).

Der Gesamtkreatiningehalt war also auch bei diesen beiden Tieren sehr niedrig, ebenso wie bei den im Versuch II mit angeführten kleinen Kaninchen.

Es enthält die Muskulatur junger Tiere danach offenbar viel weniger Kreatin als diejenige älterer und ausgewachsener, womit sich vielleicht auch die unverhältnismäßig geringe Kreatininausscheidung junger Tiere und Menschen vgl. Ritschel,¹⁾ van Hoogenhuyze und Verploegh²⁾ usw. in Zusammenhang bringen läßt.

Ebenso sind wohl die großen Unterschiede in dem Gesamtkreatiningehalt der Muskulatur derselben Tierart, die in der Literatur verzeichnet sind, vgl. Voit u. a., zu erklären.

Das Gesamtergebnis dieser autolytischen Versuche, die allerdings wohl nicht ganz einwandfrei sind und jedenfalls mit allen Kautelen wiederholt werden müssen, fasse ich kurz dahin zusammen, daß mit großer Wahrscheinlichkeit der Kaninchenmuskel auch im Reagenzglas die Fähigkeit besitzt, Glykocyamin zu Kreatin zu methylieren. Die erhaltenen Prozentzahlen würden mit den im lebenden Tierkörper gefundenen ziemlich übereinstimmen.

Für die Verwertung der Versuche ist besonders zu bemerken, daß die Steigerung des Gesamtkreatiningehaltes nach Glykocyaminzusatz gering im Verhältnis zu dem großen Gesamtkreatiningehalt der Muskeln an sich ist und damit natürlich etwaige Fehler bei der Ablesung bedeutend ins Gewicht fallen können.

Während im Harn die Vermehrung nach Glykocyaminfütterung den drei- ja vierfachen Wert des ursprünglichen Gehaltes an Gesamtkreatinin betrug, kann bei Untersuchung der

¹⁾ Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. LXI.

²⁾ s. o.

Muskulatur der Zuwachs an Kreatinin bei gleich intensiver Methylierung höchstens $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen Gehaltes betragen, und wenn auch das Auftreten von Glykocyamidin nur einen kleinen Fehler hervorrufen kann, so werden doch durch Unterschiede von $\frac{3}{10}$ mm der Flüssigkeitssäule des Kolorimeters, die innerhalb der Fehlergrenzen liegen, Kreatininunterschiede bis zu 22 mg bedingt, und diese fallen schon immerhin erheblicher ins Gewicht.

Einiges Interesse bieten wohl noch die durchschnittlichen Kreatinin- und Kreatinwerte der normalen Kaninchenmuskeln, nach der Folinschen Methode bestimmt:

In 100 g Muskeln wurde an präformiertem Kreatinin gefunden:

0,153 g
 0,085 »
 0,081 »
 0,146 »
 0,106 »

0,571 : 5 = 0,114 % im Durchschnitt.

Diese Werte sind, wie oben auseinandergesetzt, mit Fehlern behaftet und nur zum Vergleich mit früheren angeführt.

Anders verhält es sich mit den Gesamtkreatininwerten. Dieselben stellen eher etwas zu niedrige Zahlen dar, weil die Ausbeute nach dem Erhitzen mit Salzsäure zwischen 80 und 100% schwankt.

Die Gesamtkreatininwerte betragen:

Bei ausgewachsenen Tieren (das Hungertier scheidet ich dabei aus):

0,456 %
 0,428 %
 0,428 %
 0,435 %

Durchschnitt 0,437 %.

Ziehen wir davon das präformierte Kreatinin ab, so erhalten wir durchschnittlich 0,369% Kreatin in der Gesamtmuskulatur eines erwachsenen Kaninchens.

Bei jungen Tieren:

0,215 ‰

0,252 ‰

0,308 ‰

0,306 ‰

Durchschnitt 0,27 ‰

(Da das präformierte Kreatinin nur in zwei Fällen bestimmt wurde, sehe ich von einer Umrechnung auf Kreatin bei diesen Tieren ab.)

Nawrocki¹⁾ hatte 0,403 ‰, Voit²⁾ zwischen 0,27 und 0,336 g krystallisiertes Kreatinin gefunden.

Jaffe fand mittels der Pikrinsäure-Chlorzinkmethode aus der Gesamtmuskulatur erwachsener Kaninchen einen Gesamtkreatingehalt von durchschnittlich 0,282 ‰.

Nach der Folinschen Methode sind also die Kreatininwerte höher als mittels der Chlorzinkmethode, was von van Hoogenhuyze und Verploegh am Fleisch anderer Tiere gleichfalls festgestellt worden ist.

Versuche mit Methylguanidin.

In seiner Kreatininarbeit hat Jaffe kurz eines Versuches mit Methylguanidindarreichung beim Kaninchen Erwähnung getan, wobei er ebensowenig wie Pommerenig³⁾ eine Vermehrung des Kreatinins im Harn konstatieren konnte. Inzwischen ist auch — als meine Versuche schon abgeschlossen waren — Achelis⁴⁾ für den Hund zu dem gleichen Resultate gelangt. Auch zur Entscheidung dieser Frage schien eine Nachprüfung mit der kolorimetrischen Bestimmung wünschenswert, deren Resultate im folgenden wiedergegeben seien.

Leider konnten infolge der Giftwirkung des Methylguanidins nur mäßige Dosen als wässrige Lösung des mit Soda neutralisierten salpetersauren Salzes subkutan injiziert werden.

Das erste Tier erhielt mittags um 12 und nachmittags um 4 Uhr je 0,5 g Methylguanidin. nitricum. Es starb an dieser

¹⁾ Zeitschrift für analyt. Chemie, Bd. IV.

²⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. IV, S. 134.

³⁾ Hofmeisters Beiträge, Bd. I, S. 561.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. L.

Dosis in der Nacht nach 12 Uhr, ohne daß im Harn mehr Kreatinin als an den Vortagen gefunden wurde. Bei dem schnell eintretenden Tode war das nicht anders zu erwarten.

Bei den folgenden Versuchen gab ich den Kaninchen daher weniger Methylguanidin und außerdem Glykokoll, von der Möglichkeit ausgehend, daß dadurch die Anlagerung des Essigsäurerestes befördert und die Giftwirkung gemildert werden könnte. Doch hatte das Glykokoll keinen merklichen Einfluß auf die Vergiftungssymptome. Diese äußerten sich in Steigerung der Reflexe: Die Tiere zeigten geringe Zuckungen bei Berührung und Geräuschen; Lichtscheu: sie suchten die finstern Ecken des Käfigs auf; Appetitmangel. In einem Fall trat Durchfall auf. Zur Kontrolle wurde im nächsten Versuch (Tab. IX, S. 269) bei einem Tiere, welches nur Glykokoll erhielt, Kreatinin im Harn bestimmt.

Es war, wie Tabelle VIII zeigt, nach 1,8 g Methylguanidin. nitricum in vier Tagen keine nachweisbare Steigerung der Kreatin- oder Kreatininausscheidung eingetreten. Demnach scheint Methylguanidin gewiß keine im Organismus in Betracht kommende Muttersubstanz für Kreatin zu sein.

Die im zweiten Versuche (Tab. VIII, S. 268) etwa bestehenden Unsicherheiten, welche durch die Schwankungen der Nahrungszufuhr bedingt waren, wurden im letzten Versuche (Tab. X, S. 270) ausgeschaltet dadurch, daß das Tier stets die gleiche Menge Milch per Schlundsonde erhielt. Es trat in diesem Versuche nicht allein keine Steigerung, sondern eher eine Abnahme des Gesamtharnkreatinins auf.

Auch die Untersuchung des Muskelfleisches dieses Tieres ergab, wie oben schon ausgeführt, keine Spur einer Kreatinerhöhung, sondern gerade den allerniedrigsten Wert.

Ob bei größerer Zufuhr von Methylguanidin etwa eine Vermehrung des Harnkreatinins auftritt, läßt sich leider wegen der stark giftigen Wirkung nicht entscheiden.

Aus dem Urin der Methylguanidintiere suchte ich die Base zurückzugewinnen. Aber weder nach den Angaben von Pommerenig,¹⁾ noch nach den von Kutscher²⁾ sowie von Kut-

¹⁾ l. c.

²⁾ Zeitschrift für Nahrungs- und Genußmittel, Bd. X und XI.

Tag	Urin- menge ccm	Spezif. Gewicht Reaktion	Tier- ge- wicht g	Nah- rung Rüben g	Stick- stoff im Urin g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen	
						Kreatinin präfor- miert mg	ge- samt mg	Krea- tin mg		
1.	290	1011 alkal.	2690	400	—	92,8	106,7	16,0		
2.	315	1012 »	2667	400	—	93,0	90,0	?		
3.	310	1010 »	2658	400	—	102,0	102,0	0		
4.	320	1010 »	2630	400	0,783	105,6	104,5	?		
5.	295	1011 »	2630	400	0,589	90,8	92,8	2,3		
6.	300	1009 »	2615	400	0,608	81,9	82,0	0		
7.	284	1010 »	2620	310	0,517	86,6	87,9	1,5		Erhält um 12 und 4 ¹ / ₂ Uhr je 0,2 g Methylguanid. nitricum und je 0,5 g Glykokoll subkutan. — Fritt weniger.
8.	215	1013 sauer	2560	Hungert	0,873	97,3	107,5	11,8		Um 7 und 12 Uhr je 0,2 g Methylguanid. nitricum und 0,5 g Glykokoll subkutan. Um 5 Uhr 200 ccm physiolog. NaCl-Lösung innerlich. Das Tier war matt, empfindlich, hatte Durchfall und fraß nichts.
9.	125	1016 »	2456	100	0,989	81,6	83,0	1,6		Erhält um 9, 2 und 7 ¹ / ₂ Uhr je 0,2 g Methylguanid. nitricum und 0,5 g Glykokoll subkutan. Um 2 Uhr 200 g physiol. NaCl-Lösung innerlich. — Durchfall.
10.	210	1015 »	2410	280	1,396	107,6	107,6	0		Erhält um 9 und 2 Uhr je 0,2 g Methylguanid. nitricum und 0,5 g Glykokoll subkutan. Um 3 Uhr 200 ccm physiol. NaCl-Lösung + Gummi. Das Tier ist reizbar, macht Leckbewegungen. — Etwas Durchfall.
11.	325	1012 alkal.	2420	400	1,343	91,9	110,6	21,7		
12.	312	1012 »	2397	400	0,655	90,7	101,1	12,0		
13.	280	1011 »	2390	400	0,941	89,3	88,6	?		
14.	330	1010 »	2356	400	0,859	89,1	90,0	1,0		
15.	300	1010 »	2350	400	0,672	93,7	96,5	3,2		

Tabelle IX.

Kontrolltier zu dem mit Methylguanidin gefütterten Tiere.

Tag	Urin- menge ccm	Spezif. Gewicht Reaktion	Tier- ge- wicht g	Nah- rung Rüben g	Stick- stoff im Urin g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen
						Kreatinin präfor- miert mg	ge- samt mg	Krea- tin mg	
1.	270	1011 alkal.	2245	400	—	81,0	77,0	?	
2.	290	1010 »	2235	400	—	62,8	63,0	?	
3.	300	1009 »	2230	400	—	77,4	81,4	4,6	
4.	285	1007 »	2235	400	0,581	72,6	74,2	1,8	
5.	290	1009 »	2235	400	0,467	75,0	80,0	5,8	
6.	300	1010 »	2230	400	0,588	79,0	77,2	?	
7.	290	1009 »	2220	400	0,568	72,0	75,0	3,5	Erhält um 12 und 4 Uhr je 0,5 g Glykokoll subkutan.
8.	280	1011 »	2220	400	0,666	84,0	87,2	3,7	Erhält um 7 und 12 Uhr je 0,5 g Glykokoll subkutan.
9.	270	1010 »	2223	400	0,756	71,8	78,7	7,9	Um 9, 2 und 7 ¹ / ₂ Uhr je 0,5 g Glykokoll subkutan. Ist ziemlich munter.
10.	290	1009 neutr.	2240	270	0,690	83,2	78,3	?	Erhält um 9 Uhr 0,5 g Glykokoll. Um 2 Uhr 0,2 g Methylguanidin. nitricum.
11.	214	1010 alkal.	2190	400	0,684	77,4	80,0	4,0	
12.	196	1012 »	2260	400	0,659	69,5	82,8	15,4	
13.	300	1011 »	2236	400	0,567	69,6	82,5	14,9	

Tabelle X.

Intramuskuläre Injektion von 1,0 g Methylguanidin. nitr. bei einem Kaninchen mit täglicher Diät von 400 g Milch per Schlundsonde.

Datum	Urin- menge ccm	Spezifisches Gewicht Reaktion	Tier- ge- wicht g	Stick- stoff im Urin g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen
					Kreatinin präfor- miert mg	gesamt mg	Kreatin mg	
19. XI. 06	—	—	1610	—	—	—	Täglich 400 g Milch.	
20. XI. 06	360	1007 alkal.	1600	0,608	73,2	72,0		?
21. XI. 06	325	1008 neutral	1608	1,092	59,5	72,9		15,5
22. XI. 06	350	1010 »	1540	0,98	58,6	76,0	20,2	Mittags und abends je 0,2 g Methyl- guanidin. nitr. intramuskulär und 0,5 g Gly- kokoll subkutan.
23. XI. 06	275	1012 »	1590	0,924	44,4	66,8	26,0	
24. XI. 06	350	1009 »	1595	1,290	36,1	55,1	22,0	
25. XI. 06	280	1009 »	1650	1,197	52,9	57,4	5,2	Morgens, mittags und abends je 0,2 g Methylguanidin. nitric. intramuskulär und 0,5 g Glykokoll subkutan.
26. XI. 06	300	1009 »	—	1,491	50,0	48,0	?	

Starb.

scher und Lohmann¹⁾ zur Isolierung toxischer Basen im Harn angewandten Methoden, gelang die Isolierung. (Die Arbeit von Achelis war damals noch nicht erschienen.)

Fütterung mit Thymus.

Die Abstammung des Kreatins von Nucleinsubstanzen ist schon mehrfach, besonders auch von Jaffe erwogen worden. Es wurde deshalb an zwei Hunden die Kreatininausscheidung nach Thymusfütterung bestimmt. Die Versuchsanordnung ergibt sich aus den folgenden Tabellen.

Tabelle XI.

Hund. — Thymusfütterung.
Gewicht 10 kg.

Tag	Urin- menge ccm	Spezi- fisches Gewicht Reaktion	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen
			präfor- miert mg	Kreatinin gesamt mg	Kreatin mg	
1.	225	1040 sauer	200	nicht geprüft	—	Kreatinfreie Nahrung, Brotsuppe
2.	750	1016 »	600	» »	—	»
3.	670	1017 »	300	» »	—	1 Pfd. Thymus
4.	450	1029 »	309	» »	—	1 » »
5.	300	1030 »	360	» »	—	Frißt nichts
6.	135	1040 »	189	» »	—	1 Pfd. Thymus
7.	700	1033 »	320	380	69,6	Kreatinfreie Nahrung, Brotsuppe
8.	350	1027 alkal.	137	260	142,6	»
9.	380	1023 »	250	256	7,0	»
10.	670	1016 »	250	245	?	»

Die unregelmäßige Urinausscheidung ist auf die verschiedene Wasseraufnahme zurückzuführen, wie die spezifischen Gewichte zeigen, außerdem wurde der Urin nicht durch Katheter

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLXIII und XLIX.

entleert, sondern jeden Morgen der spontan gelassene Urin gesammelt, so daß manchmal wohl in der Blase etwas zurückgehalten wurde.

Die Bestimmungen des Gesamtkreatinins wurden in diesem Versuche nicht an allen Tagen ausgeführt, wodurch eventuell eine Steigerung der ersten Tage übersehen sein könnte. Der nächste Versuch (Tab. XII, S. 273) vermied diesen Fehler.

Trotz der ganz enormen Stickstoffsteigerung hat das Tier nicht eine Spur Kreatin oder Kreatinin mehr ausgeschieden. Das Auftreten von Kreatin ist hier mehr an die alkalische Reaktion des Urins gebunden (vgl. die diesbezüglichen Angaben von Voit), während beim Kaninchen eine Abhängigkeit von der Harnreaktion nicht ausgesprochen war.

Trotz der etwas unregelmäßigen Harnausscheidung bleibt die gelieferte Kreatininmenge während der Thymusfütterung, wo die Urinquantität infolge des zum Kochen der Thymus nötigen Wasserzusatzes bedeutend stieg, hinter der in der Vorperiode ausgeschiedenen Menge eher zurück, so daß wir mit Sicherheit eine Bildung von Kreatin aus Nucleinsubstanz der Thymusdrüse in Abrede stellen können.

Einen Einwand könnte man allerdings machen, nämlich daß, wenn ein Tier eine Zeitlang kreatinfreie Nahrung erhalten hat, sich neugebildetes Kreatin in den an Kreatin verarmten Muskeln aufspeichere, ohne ausgeschieden zu werden, eine Annahme, welche Folin¹⁾ zur Erklärung für die mangelhafte Kreatinausscheidung eines Teiles seiner Tiere nach Kreatinfütterung macht. Dem gegenüber möchte ich betonen, daß nach viertägiger reichlicher Thymusnahrung in den letzten Tagen wohl soviel Kreatin aufgespeichert wäre, daß etwas zur Ausscheidung gelangen müßte, und daß jedenfalls in der Nachperiode der durchschnittliche Kreatininwert des Urins dann ansteigen müßte.

Ferner ist gar nicht experimentell nachgewiesen, daß Muskeln desselben Tieres bei verschiedener Fütterung verschiedenen Kreatiningehalt haben.

¹⁾ Festschrift für Hammarsten, 1906.

Tabelle XII.
Hund. — Thymusfütterung.

Tag	Urin- menge ccm	Spezifisches Gewicht Reaktion	Tier- gewicht g	Stickstoff im Urin g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen Nahrung
					Kreatinin präformiert mg	Kreatinin gesamt mg	Kreatin mg	
1.	220	1037 alkal.	9290	2,009	200	352	176,3	1 1/2 Pfund Brot, Kartoffeln, Milch
2.	525	1020 »	—	3,399	281	319	44,1	»
3.	650	1017 »	9300	—	263	325	71,9	1 Pfund gekochter Thymus
4.	950	1022 sauer	8950	5,652	245	227	?	»
5.	745	1030 »	9000	12,173	228	253,8	29,9	»
6.	720	1027 »	9070	13,226	243	237	?	1 1/2 Pfund Brot, Milch, Kartoffeln
7.	400	1022 »	9200	5,068	224	224	0	»
8.	525	1017 neutral	9200	3,931	219	190	?	»
9.	500	1015 alkal.	9160	2,975	210	242,5	37,7	»
10.	440	1020 sauer	9300	—	220	219	?	»

Fütterungsversuche mit kreatinfreien Fleischrückständen und Fibrin.

Zum Schluß seien noch zwei Versuche angeführt, in welchen Tiere, die auf kreatinfreie Diät gesetzt waren, größere Mengen eiweißhaltiger Substanzen erhielten, die frei von extrahierbaren Fleischbasen waren. In einem Falle wurde Fibrin verfüttert, im zweiten kreatinfreie Muskulatur, die als Rückstand der Kreatinbestimmungen verblieben war.

Es berühren sich diese Versuche zum Teil mit schon von Voit¹⁾ angestellten, der kreatinfreie, eiweißhaltige und eiweißfreie Diät verabreichte und keinen Unterschied in der Kreatininausscheidung beobachtete.

In letzter Zeit haben van Hoogenhuyze und Verploegh²⁾ gleichfalls die Kreatininausscheidung bei eiweißarmer und eiweißreicher Diät mit und ohne Muskelanstrengungen geprüft, ohne erhebliche Differenzen im Kreatiningehalt des Harns zu finden.

Weiterhin hat Folin³⁾ die Frage mit annähernd demselben Resultat erörtert.

Koch⁴⁾ reichte lecithinreiche und lecithinarme Diät, ohne in der Kreatininausscheidung deutliche Unterschiede zu erhalten.

Die folgenden Versuche konnten zugleich Aufschluß darüber geben, ob vielleicht das Muskeleiweiß eher eine Kreatininsteigerung bewirken könnte als andere Eiweißkörper, natürlich wenn beide an sich kreatininfrei gereicht wurden.

Das Kaninchen (Tab. XIII) zeigt keine in Betracht kommende Steigerung der Gesamtkreatininausscheidung nach Muskelsubstanz oder Fibrindarreichung. Die Fibringabe war allerdings nur sehr klein.

Bei dem Hunde (Tab. XIV, S. 276 u. 277) konnte der Urin leider nicht mit dem Katheter genommen werden, da sich das Tier zu schwer katheterisieren ließ, so daß eine genaue Abgrenzung der Urinmenge nicht möglich war und nur jeden

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

³⁾ Festschrift für Hammarsten, 1906.

⁴⁾ American Journ. of Physiol., Bd. XV.

Morgen der spontan gelassene Urin gesammelt und untersucht wurde. Aber bei Betrachtung des spezifischen Gewichtes, der Harnquantität und der Kontrolle des Tiergewichtes, läßt sich der entstandene Fehler einigermaßen übersehen.

Tabelle XIII.

Kaninchen. — Fütterung mit Muskelrückständen und Fibrin.
Das Tier lieferte während der ganzen Zeit kein Kreatin.

Tag	Urin- menge ccm	Spezif. Gewicht Reaktion alkalisch	Tier- ge- wicht g	Nahrung Rüben g	Stick- stoff im Urin g	Krea- tinin präfor- miert g	Bemerkungen
1.	290	1010	2116	400	0,401	61,3	Während der ganzen Zeit keine Vermehrung des Kreatinins nach Erhitzen des Urins mit HCl
2.	290	1010	2130	400	0,345	53,4	
3.	250	1010	2150	300	0,437	53,3	Kreatinfreie Rückstände von 100 g Muskeln
4.	220	1014	2150	400	1,386	61,8	
5.	270	1011	2145	400	0,453	49,0	Kreatinfreie Rückstände von 50 g Muskelsubstanz
6.	260	1010	2150	400	0,67	49,2	
7.	300	1009	2130	300	0,546	42,5	ca. 10 g Fibrin in 200 ccm Wasser
8.	220	1015	2145	400	1,339	59,4	
9.	270	1010	2150	300	0,567	60,7	
10.	420	1010	2150	—	0,911	62,0	

Danach zeigt das Tier bei Eingabe der Muskelrückstände gar keine Steigerung der Kreatininausscheidung: Am neunten Tage wurden im Gegensatz zu allen andern Tagen 520 ccm Urin entleert, und das Tiergewicht sank über 200 g. Am darauffolgenden Tage wurden nur 140 ccm sezerniert. Nehmen wir beide Tage zusammen, so war die durchschnittliche Urinmenge dieselbe wie an den andern Tagen, und die Kreatininmenge war vom achten bis zehnten Tage durchschnittlich 93 mg gegenüber den fünf Tagen der Vorperiode mit 100 mg, während die Stickstoffausscheidung im Durchschnitt fast das Dreifache der Vorperiode betrug.

Hund. — Fütterung mit Milch

 Tabelle XIV.
 Muskelsubstanz und Fibrin.

Tag	Urinmenge ccm	Spezifisches Gewicht Reaktion	Tiergewicht g	Futter	Stickstoff im Urin g	Kolorimetrische Bestimmung			Bemerkungen
						präformiert mg	Kreatinin gesamt mg	Kreatin mg	
1.	370	—	5920	110 g Brot 1/2 l Milch	—	131,3	Keine Vermehrung	0	Durchfall.
2.	450	1020 neutral	5900	»	3,915	185,0	»	0	»
3.	350	1014 alkal.	5930	»	3,018	91,5	»	0	»
4.	350	1015 »	6000	110 g Brot 1/2 l Milch etwas Knochen	2,597	97,2	»	0	»
5.	400	1020 »	5940	»	4,14	120,0	»	0	»
6.	280	1020 »	5960	»	2,607	77,7	»	0	»
7.	350	1023 »	6000	1/2 l Milch	3,822	113,4	»	0	Kein Brot, statt dessen Rückstände der auf Kreatin verarbeiteten Muskeln in Milch aufgeweicht, etwa 400 g frischer Muskulatur entsprechend.
8.	350	1021 »	6100	»	5,464	76,7	»	0	Desgleichen. Kein Durchfall.
9.	520	1020 »	5750	110 g Brot 1/2 l Milch etwas Knochen	10,556	141,7	»	0	Durchfall.
10.	140	1030 »	6010	»	2,695	72,4	»	0	»
11.	260	1020 »	6050	»	2,893	77,0	104,2	31,5	»
12.	350	1018 neutral	5950	1/2 l Milch	3,28	111,0	120,4	10,4	60 g trockenes Fibrin in Wasser aufgeweicht.
13.	520	1020 alkal.	6005	110 g Brot 1/2 l Milch	6,01	150,2	147,0	?	
14.	510	1024 »	5950	1/2 l Milch	7,35	135,5	140,0	5,2	55 g Fibrin in Milch aufgeweicht.
15.	350	1023 »	6050	110 g Brot 1/2 l Milch	4,23	130,0	141,7	13,6	Durchfall.
16.	375	1023 »	6050	»	4,17	140,6	Keine Vermehrung	?	
17.	370	1024 »	6000	»	5,18	99,1	»	0	
18.	370	1020 »	6000	»	4,71	126,4	»	0	
19.	350	1020 »	6000	»	3,72	72,9	»	0	

Anders verhielt es sich bei der Darreichung von Fibrin.

In den sechs der ersten Fibringabe folgenden Tagen — am dritten wurde abermals Fibrin verfüttert — ist die Stickstoffabgabe im Harn anfangs sehr erheblich, am sechsten Tage noch deutlich vermehrt.

Der Urin des ersten Versuchstages betrug 520 ccm infolge größerer Wasserzufuhr mit dem Fibrin, während das Tiergewicht gleich bleibt, desgleichen am nächsten Tage. Am vierzehnten Tage wurde das Fibrin nur in $\frac{1}{2}$ l Milch aufgeweicht, also keine erhöhte Wasserzufuhr und Abgabe bewirkt.

Die Kreatinin- und Kreatinausscheidung steigt gegen 100 mg pro die der Vorperiode auf 133 mg durchschnittlich während der unter dem Einfluß der Fibringabe stehenden Tage.

Es erscheint demnach wahrscheinlich, wenn auch nicht durch diesen einen Versuch endgültig erwiesen, daß Fibrinnahrung die Kreatininausscheidung beim Hunde erhöht.

Der nicht positive Ausfall bei dem Kaninchen besagt nichts, weil die dargereichte Gabe zu klein war, und es mir nicht gelang, mittels der engen Schlundsonde dem Tier mehr Fibrin zu applizieren.

Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, ob die Kreatininsteigerung durch Fibringaben sich auch sonst bestätigt, und worauf dieses Verhalten eventuell beruht, ob unter den Spaltungsprodukten des Fibrins ein besonderer Körper, der als Muttersubstanz für das Kreatin gelten könnte, etwa vorhanden ist. Da mir eine Fortsetzung der Versuche vorerst nicht möglich ist, muß ich mich mit der Mitteilung des bisherigen Befunds begnügen.
