

44. Untersuchungen über den Kreatin-Stoffwechsel im Muskel

von S. Edlbacher und Ch. J. Morel.

(24. I. 46.)

Die Frage über die Herkunft des Kreatins im Tierkörper ist schon von zahlreichen Forschern gestellt und bearbeitet worden. Die meisten dieser Arbeiten befassten sich mit Fütterungs- und Injektionsversuchen, aus denen aber nie mit Sicherheit der Schluss gezogen werden kann, ob die zugeführten Stoffe wirklich zur Neubildung des Kreatins Verwendung finden, oder ob sie nur auf indirektem Wege das Auftreten von zusätzlichem Kreatin im Harn durch Ausschwemmung hervorrufen. Durch die Arbeiten von *Borsook* und *Dubnoff*¹⁾ und die von *Bloch* und *Schönheimer*²⁾ wurde die Vorstellung entwickelt, dass aus Arginin durch Übertragung der Amidin-Gruppe auf Glycin in der Niere Glykocyamin (Guanidin-essigsäure) und dann aus diesem in der Leber durch Methylierung Kreatin gebildet werden soll. *E. Lehnartz* und *Jensen*³⁾ beschrieben nun andererseits Versuche mit Froschmuskelbrei, aus denen hervorging, dass der Froschmuskel befähigt sei, aus Arginin direkt Kreatin zu bilden. *F. Menne*⁴⁾ führte diese Versuche weiter und fand, dass auch aus Histidin, Glykocyamin und Cholin Kreatin gebildet werden könne. Endlich sind hier auch noch die Versuche von *Fisher* und *Wilhelmi*⁵⁾ zu nennen, die angeben, dass das isoliert durchströmte Kaninchenherz fähig ist, aus Arginin oder Glykocyamin und Natriumglykolat Kreatin zu bilden.

In Anbetracht der eminenten Bedeutung dieses Problems für den Muskelstoffwechsel erschien es uns deshalb von Wichtigkeit, die Versuche von *Lehnartz* und *Menne* zu überprüfen.

Unsere Untersuchungen geben nun nicht den geringsten Anhaltspunkt dafür, dass durch Digestion von Arginin, Histidin, Glykokoll, Harnstoff und Sarkosin mit Frosch-, Ratten-, Meerschweinchen- oder Kaninchenmuskelbrei eine Zunahme des Kreatins stattfindet. Durch unsere Versuche wird deshalb die durch die Untersuchungen von *Borsook* und *Dubnoff* (l. c.) und von *Bloch* und *Schönheimer* (l. c.) aufgestellte Theorie über die Entstehung des Kreatins im tierischen Organismus wieder in den Vordergrund gerückt, indem die von den genannten Autoren vermutete „Transamidinierung“ als derjenige

¹⁾ J. Biol. Chem. **132**, 559 (1940); **134**, 635 (1940); Science **91**, 551 (1940).

²⁾ J. Biol. Chem. **134**, 99 (1940).

³⁾ Z. physiol. Ch. **271**, 275 (1941).

⁴⁾ Z. physiol. Ch. **273**, 103, 269 (1942); **279**, 105 (1943); Z. ges. exp. Med. **112**, 38 (1943).

⁵⁾ J. Biol. Chem. **132**, 135 (1940).

Vorgang zu bezeichnen ist, der mit grösster Wahrscheinlichkeit bei der physiologischen Entstehung des Kreatins angenommen werden muss.

Ausführung der Versuche.

In den Arbeiten von *Lehnartz* und *Menne* (l. c.) wurde das Kreatin als Kreatinin nach der Dinitrobenzoat-Methode nach *Lehnartz*¹⁾ bestimmt. In unseren Versuchen wurde das Kreatin nach Umwandlung in Kreatinin durch Erhitzen im Autoklaven in saurem Medium, mittels der *Jafféschen* Reaktion nach *Folin* bestimmt. Das Vorgehen gestaltete sich folgendermassen:

Das Tier wird mit Kopfschlag getötet (beim Frosch Dekapitierung) und das Fell abgezogen. Die Hinterschenkelmuskulatur wird von Fett und Bindehautgewebe möglichst befreit, mit der Schere abgelöst und auf eine eisgekühlte Glasplatte gebracht. Der Muskel wird dann mit der Schere zu einem feinen Brei zerschnitten und je ca. 0,5 g dieses Muskelbreis in die vorgewogenen Wäggläschen mit dem Ansatz (Angabe der Zusammensetzung in der Tabelle) gebracht, zur genauen Ermittlung der verwendeten Muskelmenge wieder gewogen und dann im Thermostaten oder bei Zimmertemperatur, je nach Versuchsdauer exponiert. Nach der angegebenen Zeit wird mit 5 cm³ 5-proz. Trichloressigsäure in 1-n. HCl enteiwesst und zwei Stunden stehen gelassen. Der Inhalt der Wäggläschen wird dann in einen Porzellanmörser übergeführt, mit 2–3 g Seesand gut verrieben, filtriert, und von dem Filtrat ein aliquoter Teil (meistens 10 cm³) zur Bestimmung des Kreatins verwendet. Das Filtrat wird in weite Reagenzgläser gegeben und im Autoklaven 30 Minuten auf 130° erhitzt. Nach dem Erkalten werden 2 cm³ 1,2-proz. Pikrinsäurelösung (die Pikrinsäure wurde nach *Folin*²⁾ umkrystallisiert) und 4 cm³ 10-proz. Natriumhydroxyd zugegeben und während 15 Minuten zum Entwickeln stehen gelassen. Dann wird der Inhalt der Röhren quantitativ in einen 100 cm³ Messkolben übergeführt, bis zur Marke aufgefüllt und im Stufenphotometer mit Filter S 53 gegen Wasser photometriert. Je nach der Konzentration wurde eine 1 oder 2 cm³ Küvette benutzt.

Zur Herstellung der Eichkurve fand das Kreatin der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.* Anwendung, das noch zweimal aus Wasser umkrystallisiert wurde. Der Krystallwassergehalt wurde nach Trocknen in der Trockenkammer bei 100° über konz. Schwefelsäure bestimmt und entsprach genau der Formel C₄H₉O₂N₃·1H₂O. Bei den Versuchen wurden alle Substrate vor der Verwendung immer auf das p_H der Versuchslösung gebracht.

Von den äusserst zahlreichen Versuchen, die durchgeführt wurden, geben wir in der Folge nur einige Beispiele:

Tabelle 1.

Rattenmuskelbrei in 10 cm³ Phosphatpuffer p_H = 7,0 mit 15 bis 30 mg Histidin.

Leerwerte ohne Histidinzusatz.

Exposition 3 Stunden bei 38°.

mg % Kreatinin:

Leerwerte	Histidinzusatz	mg % Kreatinin
410, 418, 426	15 mg	432, 423, 429, 403, 400
436, 426, 414	20 mg	413, 413, 414, 388
413, 427, 406	30 mg	419, 410, 408, 416

Wie die obenstehenden Resultate zeigen, konnte keine Steigerung der Kreatinbildung beobachtet werden. Es wurden noch weitere Versuche mit Histidin ausgeführt, aber alle waren bei Rattenmuskelbrei ohne Erfolg.

¹⁾ Z. physiol. Ch. **271**, 265 (1941).

²⁾ Z. physiol. Ch. **228**, 268 (1934).

Da nun *Menne* fand, dass die grösste Steigerung der Kreatinbildung durch Arginin bewirkt wird, wurden die Versuche auch mit dieser Aminosäure wiederholt. Das Vorgehen gestaltete sich zunächst genau gleich wie bei den Versuchen mit Histidin.

Tabelle 2.

Rattenmuskelbrei mit 10 cm³ Phosphatpuffer p_H = 7,0 mit 20 mg Arginin.

Leerwerte ohne Argininzusatz.

Exposition drei Stunden bei 38°.

mg % Kreatinin:

Leerwerte	Ansätze mit 20 mg Arginin
453, 480, 467, 480	454, 456, 460, 460

Auch diese Versuche gaben keine Steigerung des Kreatingehaltes. Da die Methode des zweimaligen Wägens der Gläschen sehr umständlich war, wurde in den weiteren Versuchen folgendermassen verfahren: Die von Fett und Bindehautgewebe möglichst befreiten Muskelstückchen werden durch die *Latapie*-Mühle getrieben, gewogen und mit Phosphatpuffer p_H = 7,0 im Verhältniss 1:9 aufgeschwemmt. Von diesem Muskelbrei wurden je 5 cm³ (= 0,5 g Muskel) für alle Ansätze verwendet.

Tabelle 3.

5 cm³ Rattenmuskelbrei 1:9 + 5 cm³ Phosphatpuffer p_H = 7,0 mit je 20 mg Arginin.

Leerwerte ohne Arginin.

Exposition 1—3 Stunden bei 38°.

mg % Kreatinin:

Exposition	Leerwerte	Ansätze mit Arginin
1 Stunde	405, 404, 402, 399	397, 395, 394, 394
2 Stunden	394, 403, 403, 404	394, 404, 397, 397
3 Stunden	398, 399, 391, 392	397, 397, 391, 396

Auch hier kann wiederum keine Steigerung des Kreatingehaltes beobachtet werden.

Es wurden ausserdem noch zahlreiche Versuche mit verschiedenen Mengen von Arginin oder Histidin und auch bei anderen Expositionszeiten durchgeführt, aber es zeigte sich nirgends eine Zunahme der Kreatinbildung. Es scheint also dem Rattenmuskel die Fähigkeit der Kreatinbildung aus Arginin oder Histidin unter den gewählten Versuchsbedingungen abzugehen. Ebenso wurden auch die Versuche mit Froschmuskel wiederholt. Es zeigte sich aber (Tabelle 4 und 5), dass auch da keine Zunahme der Kreatinbildung zu beobachten war. Es blieb dabei gleichgültig, ob man den Muskel nur mit der Schere zerkleinerte oder ob man ihn durch die *Latapie*-Mühle trieb.

Tabelle 4.

5 cm³ Froschmuskelbrei 1:9 + 5 cm³ Phosphatpuffer p_H = 7,0 mit 20 mg Arginin.

Leerwerte ohne Arginin (*Latapie*).

Exposition 3 Stunden bei Zimmertemperatur.

mg % Kreatinin:

Leerwerte	Ansätze mit Arginin
341, 342	347, 341, 340, 341

Tabelle 5.

0,5 g Frostmuskelbrei + 10 cm³ Phosphatpuffer p_H = 7,0 mit 20 mg Arginin.

Leerwerte ohne Arginin (Schere).

Expositionszeit 3 Stunden bei Zimmertemperatur.

mg % Kreatinin:

Leerwerte	Ansätze mit Arginin
322, 323	302, 325, 310, 336, 331

Die Versuche wurden auch mit Meerschweinchen- und mit Kaninchenmuskel durchgeführt. Ausserdem wurde noch der Einfluss von Glykokoll, Harnstoff, Sarkosin allein und in Kombination mit Arginin untersucht. In keinem Fall liess sich eine Kreatinbildung nachweisen. Wir verzichten daher auf die Wiedergabe der diesbezüglichen Protokolle.

Fr. Verena Müller hat bei den Versuchen wertvolle Hilfe geleistet.

Basel, im Januar 1946.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

45. Über die Isolierung eines Emodin-biosides aus der Rinde von Rhamnus Frangula

von E. Seebeck und O. Schindler.

(29. I. 46.)

Die Rinde des Faulbaumes, *Rhamnus Frangula* L., ist die einzige einheimische der officinellen Anthrachinondrogen. Ihre milde purgative Wirkung ist schon seit langer Zeit bekannt und geschätzt¹⁾. Es fehlte deshalb nicht an Versuchen, aus der Rinde die wirksamen Inhaltsstoffe, die sich als Derivate des 9,10-Anthrachinons erwiesen, zu isolieren. (Eine genaue Literaturzusammenstellung über die Bearbeitungen bis zum Jahre 1925 findet sich in der Diss. von R. Mäder²⁾). Alle diese Versuche bezweckten, die Anthrachinone in ihrer genuinen gebundenen Form zu fassen. Von zahlreichen Forschern wurde in wechselnder Ausbeute und Reinheit ein Rhamnosid des Emodins — es wurde Frangulin genannt — isoliert^{3-6 u. A.)}. Die Konstitution des Aglucons dieses Rhamnosides wurde durch die Synthese

¹⁾ Vgl. z. B. R. Magnus in A. Heffter's Handbuch der exp. Pharmakol. II, 1592 (1924).

²⁾ Diss. R. Mäder, Basel, 1925.

³⁾ A. Casselmann, A. 104, 77 (1857).

⁴⁾ A. Faust, Arch. Pharm. 1869, 8.

⁵⁾ C. Liebermann, M. Waldstein, B. 9, 1775 (1876).

⁶⁾ P. Schwabe, Arch. Pharm. 1888, 569.