

IV. Ein Theil der Benzoësäure, welche sich im thierischen Organismus gewöhnlich in Hippursäure verwandelt, setzt sich bisweilen in demselben nicht um, und in diesem Falle scheiden sich in dem Harn Hippur- und Benzoesäure zusammen aus.

Indem ich diese Versuche der Oeffentlichkeit übergebe, kann ich nicht umhin, Herrn Dr. Kühne, der mich bei meinen Arbeiten im chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin mit seinem Rathe freundlich unterstützte, meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Berlin, den 16. April 1863.

XXII.

Beitrag zur Physiologie des Muskelstoffwechsels.

Von Dr. Sarokow aus Petersburg.

Im Laufe des letzten Decenniums haben die Arbeiten von Dubois-Reymond, Helmholtz, Brücke, Rollet, Kühne u. A. den anatomischen Bau der Muskeln, so wie auch deren physikalische Verhältnisse während der Ruhe und der Thätigkeit so weit aufgeklärt, dass dieses ganze Gebiet so gut wie abgeschlossen zu betrachten ist. Ein gleiches ist von den bei der Thätigkeit der Muskeln vor sich gehenden chemischen Vorgängen nicht zu behaupten. Hinsichtlich der letzteren besitzen wir nur die Angaben von Helmholtz (Müller's Archiv, 1845), der gefunden hat, dass in tetanisierten Muskeln die Menge des wässerigen Extracts vermindert und die des alkoholischen vermehrt wird. Diese Thatsache, die zu einer Zeit ermittelt wurde, wo wir noch nicht hinreichende Kenntniss über die chemische Zusammensetzung des Fleisches hatten, war jedenfalls von grosser Bedeutung, indem dadurch bewiesen wurde, dass die im Organismus geleistete Arbeit in direkter Abhängigkeit vom chemischen Umsatz des Stoffes stünde. Gegenwärtig ist dies schon als eine ganz unbestreitbare Thatsache anzusehen.

sehen, und wir bedürfen nur genauerer Kenntnisse über die Einzelheiten des chemischen Umsatzes in den Muskeln während ihrer Ruhe und der Thätigkeit. Nur in dieser Richtung ausgeführte Untersuchungen können den Muskelstoffwechsel, so wie auch den der anderen Organe und dadurch auch die allgemeine chemische Metamorphose des Organismus aufklären. Zu einer derartigen Untersuchung wählte ich unter den Bestandtheilen der Muskeln das Kreatin und Kreatinin, einerseits weil sie der Analyse zugänglicher sind, anderseits aber, weil sie, nach ihrer Ausscheidung durch den Harn zu urtheilen, von grosser Bedeutung beim Stoffwechsel zu sein scheinen.

Natürlich musste ich vor allen Dingen die Menge dieser beiden Körper im ruhenden Muskel bestimmen, besonders da in dieser Hinsicht die Angaben sich direct widersprechen. Liebig (Ann. d. Chemie u. Pharm. Bd. LXII. 1847) war bekanntlich der Erste, der eine ausführliche Analyse des Fleisches geliefert hat, wobei er die beste Methode zur Darstellung des Kreatins angab und zu gleicher Zeit eine neue Base — das Kreatinin — entdeckte, welches in geringerer Menge als das Kreatin im Muskel enthalten sei. Liebig bemerkte schon damals, dass aus dem Fleisch der auf der Jagd gehetzten Füchse weit mehr Kreatin als aus demjenigen der zu Hause gut genährten Thiere gewonnen werden kann. In neuerer Zeit machte Dr. Borsczow (Würzburger naturwissenschaftl. Zeitschr. 11. Bd. 2. Hft. 1861) Untersuchungen über das Vorkommen der Milchsäure in lebenden Muskeln und lenkte dabei seine Aufmerksamkeit auf Kreatin und Kreatinin, wobei er gefunden zu haben glaubte, dass das letztere den vorwaltenden Stoff im Fleischextracte bilde, während das erstere blos als ein untergeordneter Bestandtheil in demselben zu betrachten sei. Daraus macht Borsczow den Rückschluss, dass beim Stoffwechsel nicht Kreatin in Kreatinin, sondern umgekehrt das letztere in das erstere umgesetzt werde, obwohl gegen diese Behauptung schon der Umstand spricht, dass Kreatinin durch die Niere in verhältnissmässig ziemlich beträchtlicher Menge ausgeschieden wird, von Kreatin hingegen blos Spuren im Harn gefunden werden.

Um die Wahrheit zu finden habe ich eine andere analytische

Methode angewandt, indem ich Kreatinin als eine Verbindung mit Chlorzink bestimmte; der Grund dieses Verfahrens wird später erklärt werden. Alle Versuche wurden an Froschmuskeln ausgeführt, erstens weil sie weniger Fette und Leim enthalten, die bei der Analyse so störend sind, und zweitens weil ich einige Versuche an alkalisch reagirenden Muskeln anstellen wollte, diese Bedingung aber bekanntlich bei warmblütigen Thieren nicht so leicht herzustellen ist. Für jede Analyse wurden die Muskeln von zwei Fröschen angewandt, was für die Bestimmung der Kreatininmenge vollkommen ausreicht. Ich gehe jetzt zur Beschreibung desjenigen analytischen Vorganges über, der mir die reinsten Resultate lieferte.

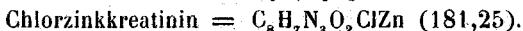
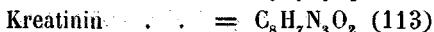
Nach Entfernung des Kopfes und der Haut des Thieres wurden die Muskeln der hinteren Extremitäten schnell ausgeschnitten, abgewogen und sofort in kochenden Weingeist geworfen. Die gekochten Muskeln, welche immer amphigene Reaction zeigten, wurden nun fein mit der Scheere zerschnitten, im Mörser zusammengerieben, mit demselben Weingeist wieder gekocht, dann durch reine Leinwand durchgeseit und sorgfältig ausgepresst. Der erhaltene Extract wurde in die Kälte gestellt, wonach sich ein starker Bodensatz bildete, von welchem die Flüssigkeit durch das Papierfilter abfiltrirt, und das Filtrat in einer Porzelanschale bis zur Trockne abgedampft wurde. Der Rückstand wurde mit ungefähr 40 Cem. kochenden Wassers aufgenommen, durch ein kleines Filter abfiltrirt und das letzte wiederholt mit destillirtem Wasser ausgespült; die letztere Operation dauert ziemlich lange, da die zähe Flüssigkeit sehr schlecht filtrirbar ist. Diesem Uebelstande kann dadurch abgeholfen werden, dass die Filtration zuerst durch ein fein gelöchertes Filter ausgeführt wird. Der abfiltrirte Auszug wurde zu wiederholten Malen mit Aether geschüttelt und dann ruhig stehen gelassen; nachdem beide Schichten sich von einander vollkommen abgetrennt hatten, wurde die obere, ätherische Schicht, welche dem weiteren Gange der Analyse störende Stoffe: Fette etc. enthält, abgegossen und der Rest bis zur Trockne abgedampft. Dabei muss ich bemerken, dass das Abdampfen und Kochen der Extracte niemals auf freiem Feuer, sondern immer auf dem Wasserbade ausgeführt wurde.

Der trockene Rückstand wurde sorgfältig mit 92 pct. Spiritus zusammengerieben, bis zum Sieden gekocht und darauf durch ein kleines Filter abfiltrirt; diese Operation wurde 2—3 Mal wiederholt so, dass ich auf diese Weise von der vollständigen Ausziehung des Kreatinins überzeugt sein konnte. Das gewonnene Filtrat wurde bis auf ein Volum von 25 Ccm. concentrirt und dann mit einer gleichen Quantität absoluten Alkohols versetzt. Nach dem Erkalten wurden zu diesem Extract mittelst einer feinen Pipette 3 Tropfen vollkommen neutraler, alkoholischer Chlorzinklösung zugesetzt, wobei schon vom ersten Tropfen eine Trübung entstand, welche sich nach Verlauf einiger Minuten als ein flockiger Niederschlag am Boden sammelte. Von diesem Xanthoproteinreaction gebenden Niederschlage wurde die Flüssigkeit durch ein kleines Filter abfiltrirt, das Filter mit wenig Alkohol ausgewaschen und das Filtrat mit einer grösseren Menge ($\frac{1}{4}$ Ccm.) Chlorzinklösung versetzt; wenn bisweilen dabei auch eine Trübung entstand, so verschwand sie nach einigen Stunden, wonach sich ganz feine Krystalle an den Glaswänden bildeten. Die mit Chlorzink versetzte Flüssigkeit wurde, mit Papier bedeckt, in die Kälte gesetzt. Nach 4—5 Tagen wurden die ausgebildeten, stark an den Wänden des Gefässes haftenden Krystalle sorgfältig auf einem gewogenen Filter gesammelt. Die Mutterlauge wurde im Luftbade bei ungefähr 60° C. langsam abgedampft, und wenn sich dabei noch einige Krystalle gebildet hatten, wurden auch diese auf dasselbe Filter gebracht und dann wiederholt so lange mit Alkohol ausgewaschen, bis keine Spur von Chlor im abgelaufenen Alkohol nachzuweisen war.

Ganz auf dieselbe Weise wurde die Kreatininmenge auch in sauer reagirenden Muskeln bestimmt, wozu entweder die Muskeln gestorbener Frösche, oder fein zerschnittene und auf einige Zeit in die Wärme bis zur stark saueren Reaction gestellte, frische Muskeln angewandt wurden.

Was das Kreatin anbetrifft, so bestimmte ich die Menge desselben auf indirectem Wege, indem ich den Wasserextract der Muskeln mit Mineralsäuren kochte und so das darin enthaltene Kreatin gleichfalls in Kreatinin verwandelte. Die Gesamtmenge des letzteren wurde nun als Chlorzinkkreatininverbindung ermittelt.

Von der erhaltenen Quantität des Kreatinins wurde das Mittel der in sauer reagirenden Muskeln vorhandenen Kreatininmenge (0,07 pCt.) abgezogen und aus dem Rest die Menge des Kreatins nach den folgenden Formeln berechnet:



Das Verfahren war folgendes: die abgewogenen, fein zerschnittenen und in dem Mörser zerriebenen Muskeln wurden mit 75 Cem. destillirten Wassers gekocht, durch reine Leinwand filtrirt und ausgepresst; der Rückstand noch einmal mit heissem Wasser zerrieben und ausgepresst, das Filtrat mit 2 Tropfen Essigsäure angesäuert, noch einmal gekocht und dann durch ein Papierfilter filtrirt. Das Filtrat wurde 4—5 Stunden lang mit Schwefelsäure gekocht, dann mit Aetzbaryt bis zum Zurückbleiben einer schwach sauren Reaction neutralisiert, die Flüssigkeit abfiltrirt und der Niederschlag auf dem Filter ausgewaschen; das Filtrat wieder im Wasserbade abgedampft und demselben gegen Ende des Abdampfens frisch gefälltes und gut ausgewaschenes Bleioxyhydrat zugesetzt. Die erhaltene trockene Masse extrahirte ich mehrmals mit 92prozentigem Alkohol und behandelte dann den Extract nach der oben angegebenen Weise. Ich muss dabei bemerken, dass wie sorgfältig die Extraction auch ausgeführt werden mag (wobei es sich gleich bleibt, ob mit Spiritus oder Wasser), das ungelöste Blei immer gelb gefärbt bleibt, beim Glühen schwarz wird und einen an verbranntes Kreatinin erinnernden Geruch verbreitet. Sehr leicht war es also möglich, dass ein Theil des Kreatins für die Analyse verloren ging, da es sich aber nicht um die absoluten Werthe, sondern nur um das Verhältniss zwischen den beiden organischen Körpern handelt, und da ich ferner immer dasselbe Verfahren angewandt habe, so ist der möglicher Weise stattfindende Verlust nicht nur von keinem grossen Belange, sondern die erhaltenen Resultate sind in diesem Falle sogar a fortiori für richtig zu erachten.

Die Analysen haben mir folgendes gezeigt:

Die Menge des Kreatinins auf 100 Th. ruhender Muskeln.

alkalisch reagirender sauer reagirender zuvor todenstarr gewordener

I.	0,06	I.	0,07
II.	0,04	II.	0,08
III.	0,05	III.	0,08
IV.	0,06	IV.	0,07

Gesammtmenge von Kreatin und Kreatinin als Kreatinin berechnet. Auf 100 Th. Muskeln:

I.	0,18
II.	0,17
III.	0,17
IV.	0,19

Die aus den Zahlen auf angegebene Weise berechnete Menge des Kreatins auf 100 Th. Muskeln:

I.	0,12
II.	0,11
III.	0,10
IV.	0,12.

In allen diesen Zahlen bemerkte man eine kleine Schwankung, welche so gut den Mängeln der analytischen Methode, wie auch den physiologischen Schwankungen des Gehalts der Muskeln an den in Rede stehenden Körpern zugeschrieben werden kann. Weiter sieht man, dass todenstarre Muskeln immer etwas mehr Kreatinin enthalten, als alkalisch reagirende. In ruhenden Muskeln verhält sich die Menge des Kreatins zu der des Kreatinins wie 2 : 1.

Nachdem ich diese Anhaltspunkte gewonnen hatte, ging ich zu der Analyse tetanisirter Muskeln über.

Die Tetanisirung wurde dadurch erzielt, dass gesunden Fröschen zwei Drähte, welche mit den Electroden des mit zwei Grawe'schen Elementen getriebenen Dubois-Reymond'schen Schlitten-Electromotors verbunden waren, durch die Rückenhaut durchgestossen wurden. Bei dieser Einrichtung geriethen die Muskeln in Tetanus durch Reizung des Rückenmarkes, und da die Entfernung der Electroden von einander nur gering (ungefähr $\frac{1}{2}$ Cm.) war, so konnte ich wohl bestimmt voraussetzen, dass hier keine directe Electrolyse der Muskeln in Folge von zu beträchtlichen Stromsbleifen

stattfand. Nach 4—7 Stunden mit Unterbrechungen fortgesetzter Tetanisirung wurden die Frösche getödtet, und die nun stark sauer reagirenden Muskeln nach der oben beschriebenen Methode untersucht. Aus 8 Analysen sind folgende Resultate erhalten:

Die Menge des Kreatinins auf 100 Th. tetanisirter Muskeln:

- I. 0,15
- II. 0,08
- III. 0,12
- IV. 0,10.

Gesammtmenge von Kreatin und Kreatinin als Kreatinin berechnet in 100 Th. tetanisirter Muskeln:

- I. 0,20
- II. 0,19
- III. 0,22
- IV. 0,22.

Diese auffallenden Schwankungen der Zahlen lassen sich sehr leicht dadurch erklären, dass erstens die Tetanisirung nicht in allen Fällen während gleicher Dauer wirksam war und zweitens, dass ich nicht immer einen starken und anhaltenden Tetanus erzielen konnte. Aber dessenungeachtet sehen wir, dass die Menge des Kreatinins sehr beträchtlich erhöht und in einem Falle sogar über das Doppelte gestiegen ist. Was aber das Kreatin anbelangt, so kann ich dessen Werth nicht in Zahlen ausdrücken, weil hier die früher beschriebene indirecte Methode nicht anwendbar ist, und ich durch Mangel an Zeit verhindert war, das andere Verfahren einzuschlagen. Jedenfalls sehen wir, dass die Gesammtmenge von Kreatin und Kreatinin bei der Muskelthätigkeit erhöht wird, es findet folglich hierbei nicht nur eine Umwandlung des Kreatins in Kreatinin, sondern auch eine entschiedene Vermehrung (Bildung) des ersten statt.

Ich resümire das Mitgetheilte in folgendem:

1. Kreatinin ist sowohl in alkalisch, wie auch in sauer reagirenden Muskeln, und zwar in den letzteren in etwas grösserer Quantität vorhanden.

2. Die Menge des Kreatins ist in ruhenden Muskeln fast doppelt so gross wie die des Kreatinins.

3. Während der Muskelarbeit wird das Kreatin in Kreatinin umgewandelt und

4. Es findet hierbei auch eine absolute Vermehrung des Kreatins statt.

Die Behauptung Borszczow's, dass das Kreatinin beim Stoffwechsel in Kreatin umgesetzt werde, halte ich für entschieden unrichtig. Er stützt seinen Schluss auf das von ihm gefundene Ueberwiegen des Kreatinins in den Muskeln. Diesen Fehler aber in seinen Resultaten glaube ich mir dadurch erklären zu können, dass er die Körper nach ihrer angeblich verschiedenen krystallinischen Form bestimmte, ich aber hatte die Gelegenheit, mich öfters zu überzeugen, dass beide Stoffe in denselben und zwar sehr verschiedenartigen Formen krystallisiren, häufig z. B. in baumsförmig gelagerten, feinen Nadeln, je nach den Bedingungen der Krystallisation. Eben dieser Umstand war es auch, der mich bewog statt der leichteren und einfacheren Liebig'schen Methode, die viel weitläufigere, angegebene Untersuchungsmethode zu wählen.

Möglich aber ist es auch, dass die von Borszczow erhaltenen Resultate richtig waren und vielleicht blos dem Umstände zuzuschreiben sind, dass er seine Untersuchungen an Ochsenherzen anstellte. Das Herz ist aber ein in immerwährender Thätigkeit sich befindendes Organ, das nach Dr. Kühne sogar öfter sauer reagirt, und wir haben ja eben gesehen, dass das Verhältniss zwischen Kreatin und Kreatinin im thätigen Muskel ein ganz anderes ist, als in ruhenden Muskeln.

Schliesslich benutze ich die Gelegenheit, Herrn Dr. Kühne, in dessen Laboratorium und auf dessen Veranlassung ich diese Arbeit unternommen, meinen verbindlichsten Dank auszudrücken.

Berlin, den 31. März 1863.