

Über die Autolyse der Stierhoden.

Von

Dr. J. Mochizuki und Y. Kotake.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität zu Kyoto.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. September 1904.)

Daß die Stierhoden autolytische Umwandlungen erleiden können, scheint Conradi¹⁾ bereits erkannt zu haben. Jedoch sind wir über die Spaltungsprodukte, welche bei der Autolyse der Stierhoden auftreten, bisher noch nicht unterrichtet. Die Kenntnis dieser Spaltungsprodukte erscheint uns sehr wünschenswert, nicht nur um sie mit den autolytischen Produkten verschiedener anderer Organe zu vergleichen, sondern auch weil man hoffen kann, daß sie einige Schlüsse in bezug auf die Natur der dabei wirkenden Enzyme zulassen würden. Wir haben deshalb einige Versuche nach dieser Richtung hin angestellt.

1,5 kg Stierhoden wurden von der Kapsel befreit, zerhackt, mit der doppelten Menge Wasser versetzt und unter Zusatz von Chloroform und Toluol in einer gut verschlossenen Flasche bei 37° C. stehen gelassen. Die trübe, über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit wurde nach einigen Tagen klar und nahm eine bräunliche Farbe an, welche allmählich in Gelb überging. Nach dreiwöchentlicher Digestion wurde die abkolierte saure Flüssigkeit aufgeköcht und filtriert. Das Filtrat, welches ganz schwache Biuretreaktion gab, wurde nach der Vorschrift von Kutscher²⁾ auf die einzelnen autolytischen Produkte untersucht.

¹⁾ Conradi, Hofmeisters Beiträge, Bd. I, S. 147 u. 207.

²⁾ Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 114.

I. Ammoniak.

Das oben erwähnte Filtrat wurde auf $\frac{1}{3}$ eingeeengt und mit Barytwasser alkalisch gemacht; es entwickelte sich Ammoniak.

Nachdem das Ammoniak unter den autolytischen Produkten aufgefunden war, erschien es von Interesse, zu untersuchen, welchen Einfluß die Dauer der Autolyse auf die Menge des durch Magnesia austreibbaren Stickstoffs ausübt. Von den zu diesem Zwecke ausgeführten Versuchen teilen wir hier den folgenden mit:

300 g zerhackter Hodenmasse wurden mit dem doppelten Volumen Wasser durchgerührt, 24 Stunden unter Zusatz von Chloroform und Toluol bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann durch Leinwand koliert. Die abkolierte Flüssigkeit wurde in einem gut verschlossenen Glasgefäße bei 37° C. digeriert. Zur Bestimmung des durch Magnesia austreibbaren Stickstoffs wurden alle 2 Tage 40 ccm von der Flüssigkeit herausgenommen und nach der Methode verarbeitet, die der eine¹⁾ von uns früher benutzt hatte. Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Dauer der Digestion	Zur Analyse verwendete Lösung in Kubikzentimetern	Durch Magnesia austreibbarer Stickstoff in Grammen
vor der Digestion	40	0,0027
2 Tage	40	0,0049
4 „	40	0,0052
6 „	40	0,0052
8 „	40	0,0057
10 „	40	0,0059
12 „	40	0,0064
14 „	40	0,0061

Aus der obigen Tabelle geht hervor, daß der durch Magnesia austreibbare Stickstoff allmählich im Verlauf der Autolyse zunimmt. Da nun der «Magnesiastickstoff» zum größten Teile

¹⁾ Mochizuki, Hofmeisters Beiträge, Bd. I, S. 44.

neugebildetem Ammoniak entspricht, so unterliegt keinem Zweifel, daß die längere Dauer der Autodigestion eine Vermehrung des Ammoniaks herbeiführt.

II. Purinbasen.

Der durch Barytwasser erzeugte Niederschlag wurde abfiltriert, das Filtrat durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit und zum Sirup eingedampft. Nach 24 stündigem Stehen schied sich eine Kristallmasse aus, welche ihrer Form nach wahrscheinlich aus Leucin und Tyrosin bestand.

Ohne die Kristalle abzufiltrieren, wurde der Sirup mit Wasser verdünnt, mit Salpetersäure neutralisiert und mit Silbernitrat ausgefällt.

Die Silberfällung wurde mit Salzsäure zerlegt, die von Chlorsilber filtrierte Flüssigkeit zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit heißem Wasser aufgenommen. Die wässrige Lösung wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht und 24 Stunden stehen gelassen: es fiel ein Niederschlag aus. Ob dieser Niederschlag mit Guanin identisch war, konnten wir wegen des Mangels an Material nicht feststellen.

Die vom Ammoniakniederschlage abfiltrierte Flüssigkeit wurde nach der Vertreibung des Ammoniaks mit Wasser aufgenommen, nach Zusatz eines Tropfens wässriger Methylorangefärbung bis zur schwachen Rotfärbung mit Salzsäure und hiernach mit Natriumpikrat versetzt: es entstand kein Niederschlag von Adeninpikrat.

Die mit Natriumpikrat versetzte Flüssigkeit wurde mit Salpetersäure und Benzol von Pikrinsäure befreit und mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt. Die Silberfällung wurde nach der bekannten Methode A. Kossels unter Zusatz von etwas Harnstoff in einer siedenden Salpetersäure von 1,1 spez. Gewicht gelöst und heiß filtriert. Nach dem Erkalten schied sich Hypoxanthinsilbernitrat aus.

0,2809 g Substanz gaben 0,1330 g AgCl

Berechnet für $C_5H_4N_4O \cdot AgNO_3$:

Ag 35,29%

Gefunden:

35,64%

Aus dem Filtrate vom Hypoxanthinsilbernitrat wurde das Xanthinsilber durch Ammoniak gefällt.

0,1624 g Substanz gaben 0,0904 g Ag

Berechnet für $C_5H_4N_4O_2 \cdot Ag_2O$:	Gefunden:
Ag 56,25%	55,67%

Wenn auch die Menge des Silbers zu gering gefunden wurde, so hielten wir doch die Substanz für Xanthinsilber, denn die aus ihr dargestellte freie Base gab sehr schöne Xanthinprobe und die Reaktion von Weidel.

III. Thymin.

Die von Silberverbindungen der Purinbasen abfiltrierte Lösung wurde mit Silbernitrat und Barytwasser ausgefällt. Der Niederschlag wurde in schwefelsäurehaltigem Wasser zerteilt und durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit. Das silberfreie Filtrat wurde nach der Vertreibung des Schwefelwasserstoffs mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt.

Die Phosphorwolframsfällung wurde mit negativem Resultate auf Arginin und Histidin(?) untersucht.

Aus dem Filtrate von der Phosphorwolframsfällung wurde ein Körper erhalten, der in feinen Nadeln kristallisierte und alle Eigenschaften des Thymins zeigte.

0,1244 g Substanz gaben 27 ccm feuchtes Stickstoffgas bei 29° C. und 758,2 mm Druck.

Berechnet für $C_5H_6N_2O_2$:	Gefunden:
N 22,22%	23,57%

Der gefundene zu hohe Wert des Stickstoffs ist vielleicht der Beimischung von Uracil zuzuschreiben.

IV. Lysin und Cholin.

Das Filtrat von dem mit Silbernitrat und Barytwasser erzeugten Niederschlage wurde nach dem Verfahren von Kossel und Kutscher auf Lysin verarbeitet: es wurden erhalten: 0,9217 g Pikrat. Das erhaltene Pikrat gab bei der Analyse folgende Zahlen:

0,2030 g Substanz gaben 34 ccm feuchtes Stickstoffgas bei 25° C. und 758 mm Druck.

0,1740 g Substanz gaben 0,2432 g CO₂ und 0,0705 g H₂O.

Berechnet für C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂ · C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ :	Gefunden:
C 38,40%	38,12%
H 4,53%	4,50%
N 18,66%	18,62%

Die Zahlen stimmen völlig mit denen des Lysinpikrates überein.

Die vom Lysinpikrat abfiltrierte alkoholische Lösung wurde nach dem Verdunsten des Alkohols mit Wasser aufgenommen und mit Salzsäure und Benzol von Pikrinsäure befreit. Die pikrinsäurefreie Flüssigkeit wurde bei mäßiger Temperatur zum Sirup eingedampft, der Sirup mit absolutem Alkohol extrahiert und das Filtrat mit alkoholischer Platinchloridlösung ausgefällt. Die aus Wasser umkristallisierte Substanz erwies sich durch die Analyse als salzsaures Cholinplatinchlorid.

0,1700 g Substanz gaben 7 ccm feuchtes Stickstoffgas bei 29° C. und 757,8 mm Druck.

0,2810 g Substanz gaben 0,0883 g Pt.

Berechnet für 2 C ₅ H ₁₄ NOCl · PtCl ₄ :	Gefunden:
N 4,55%	4,48%
Pt 31,66%	31,51%

Unter den autolytischen Produkten der Stierhoden wurden somit aufgefunden: Ammoniak, Guanin(?), Hypoxanthin, Xanthin, Thymin, Lysin und Cholin. Ob Leucin und Tyrosin auch in den autolysierten Stierhoden vorkommen, muß durch weitere Untersuchung entschieden werden.