

# Beiträge zur Kenntnis der Fermente der Stierhoden.

Von  
Dr. Shinji Mihara.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität zu Kyoto.)  
(Der Redaktion zugegangen am 6. Oktober 1911.)

Bei der außerordentlichen Wichtigkeit, welche die Untersuchung der Fermente für die Aufklärung des Zellstoffwechsels besitzt, muß es wundernehmen, daß bisher nur spärliche Mitteilungen über die Fermente der Stierhoden vorliegen.

C. Hervieux<sup>1)</sup> hat gezeigt, daß die Hoden von Ebern, Widdern, Hunden, Affen und Menschen ein amylolytisches und ein Neutralfett und Salol spaltendes Ferment enthalten. Da nun diese Fermente auch in den Hoden der Föten und der jungen Tiere, bei welchen die Seminaldrüse noch im embryonalen Zustande ist, vorkommen, so glaubt er zu folgendem Schluß berechtigt zu sein: «Ceux ci, existant aussi dans le testicule des adultes, nous croyons devoir conclure que les diastases hydrolysantes rencontrées d'une manière très générale dans le testicule des mammifères ont leur origine dans la glande interstitielle de cet organe.»

Bei Untersuchungen an den reifen Geschlechtszellen von Amphibien hat ferner Wolfgang Ostwald<sup>2)</sup> beobachtet, daß in Spermaextrakten zwei oxydative Fermente, Katalase und Peroxydase, vorhanden sind und zwar mehr als in Eierextrakten.

Erwähnt werden darf endlich, daß es S. Lang<sup>3)</sup> gelang, das Vorkommen von einer Desamidase in Stierhoden festzustellen.

<sup>1)</sup> C. Hervieux, Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 60, p. 653 (1906).

<sup>2)</sup> Wolfgang Ostwald, Biochem. Zeitschrift, Bd. 6, S. 409.

<sup>3)</sup> S. Lang, Hofmeisters Beiträge, Bd. 5, S. 321.

Bei dieser Sachlage erscheint es sehr wünschenswert, fermentative Vorgänge in den Hoden einer genaueren Untersuchung zu unterziehen und die Fermente, wenn es überhaupt möglich ist, in wirksamem Zustande aus ihnen darzustellen. Hierzu mögen die nachstehenden Versuche einen Beitrag liefern.

### I. Arginase.

A. Kossel und H. D. Dakin<sup>1)</sup> haben ein Ferment, welches das Arginin in Harnstoff und Ornithin zerlegt, in der Darmschleimhaut und Leber des Hundes entdeckt und Arginase benannt. Nach der Angabe von K. Shiga<sup>2)</sup> findet sich Arginase auch im Hefepreßsaft.

Um die Frage zu entscheiden, ob nicht Arginase in Stierhoden vorhanden sei, verfuhr ich wie folgt.

Die Stierhoden wurden von der Kapsel befreit, zerkleinert und daraus der Preßsaft nach dem Buchnerschen Verfahren bereitet: von diesem Preßsaft wurden zwei Portionen zu je 100 ccm abgemessen.

Portion A. 100 ccm Preßsaft wurden in einer gut verschließbaren Flasche mit 1000 ccm Wasser, worin 6,461 g Arginincarbonat gelöst waren, durchgemischt und unter Zusatz von 15 ccm Chloroform und 25 ccm Toluol im Brutofen digeriert.<sup>3)</sup> Nach 5 tägiger Digestion wurde das Eiweiß durch Kochen und Filtrieren entfernt und das Filtrat bei einer mäßigen Temperatur bis auf ca. 100 ccm eingeeengt. Ich säuerte nun diese Lösung mit Schwefelsäure an und fällte mit einer 10%igen Phosphorwolframsäurelösung vollständig aus.

### Verarbeitung des Filtrates des Phosphorwolframsäurefiltrates.

Vom Filtrat wurde eine kleine Portion abgemessen und zur Stickstoffbestimmung verwandt. Es wurden, auf Gesamtiltrat umgerechnet, gefunden: 1,3180 g N.

<sup>1)</sup> A. Kossel und H. D. Dakin. Diese Zeitschrift. Bd. 41, S. 321.

<sup>2)</sup> K. Shiga. Diese Zeitschrift, Bd. 42, S. 502.

<sup>3)</sup> Bei dieser Versuchsanordnung gelang es mir, jede Einwirkung von Mikroorganismen vollständig auszuschließen.

Der größere Teil des Filtrates wurde auf die bekannte Weise durch Baryt von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure und durch Kohlensäure vom Baryt befreit, im Vakuum fast bis zur Trockne eingedampft und mit absolutem Alkohol extrahiert. Die alkoholischen Auszüge wurden nach dem Verdunsten des Alkohols mit Salpetersäure versetzt; es schied sich allmählich eine Krystallmasse aus, welche große Ähnlichkeit mit salpetersaurem Harnstoff aufwies. Aus dem Nitrat wurde der freie Harnstoff dargestellt, welcher nach dem Erhitzen sehr schöne Biuretreaktion gab. Der Harnstoff wurde in das Oxalat umgewandelt und dann der Analyse unterworfen.

0,2044 g Substanz gaben 48,90 ccm N bei 23,5° C. und 756 mm B.

Berechnet für $2 \text{CO}(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ :	Gefunden:
N 26,71 %	26,82 %

#### Verarbeitung des Phosphorwolframsäureniederschlages.

Der Niederschlag wurde durch Baryt von Phosphorwolframsäure und durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit; es resultierte eine basenreiche Lösung. Aus dieser Lösung fällte ich Purinbasen und Hexonbasen mit Silbernitrat und Baryt vollständig aus, füllte die von den Silberverbindungen abfiltrierte Flüssigkeit, nachdem der Überschuß von Silber und Baryt durch Salzsäure und Schwefelsäure entfernt war, auf ein bekanntes Volumen auf, verwandte einen kleinen gemessenen Teil davon zur Stickstoffbestimmung und verarbeitete die übrigbleibende größere Menge auf Ornithin.

Es wurden in der von Purin- und Hexonbasen befreiten Flüssigkeit, auf das Gesamtfiltrat berechnet, gefunden: 0,2190 g N. Dieser Stickstoff rührte sicherlich zum größten Teil von Ornithin her.

Zum Nachweis von Ornithin wurde die silber- und barytfreie Flüssigkeit mit Natronlauge und Benzoylchlorid durchgeschüttelt und dann mit Salzsäure angesäuert; die dabei ausgeschiedene Krystallmasse wurde nach dem Auswaschen mit Wasser mit Äther geschüttelt und zweimal aus Alkohol umkrystallisiert.

Die so gereinigten Krystalle zeigten die charakteristische Krystallform der Ornithursäure, schmolzen bei  $181,6^{\circ}$  und gaben bei der Analyse folgende Werte.

0,1794 g Substanz lieferten 13,89 ccm N bei  $25^{\circ}$  C. und 756,8 mm B.

Berechnet für $C_{19}H_{20}N_2O_4$ :	Gefunden:
N 8,25%	8,59%.

Portion B. Zur Kontrolle wurden 100 ccm Preßsaft mit 1000 ccm Wasser, 15 ccm Chloroform und 25 ccm Toluol durchgeschüttelt und in den Brutschrank gestellt. Nach 5 Tagen wurden die Digestionsprodukte auf die gleiche Weise behandelt, wie bei Portion A.

Es ergab sich, daß im Phosphorwolframsäurefiltrate 0,1170 g N vorhanden waren, während die Menge des durch Phosphorwolframsäure fällbaren und durch Silbernitrat und Barytwasser nicht fällbaren Stickstoffes 0,034 g betrug. Es gelang mir jedoch nicht, eine Spur von Harnstoff und Ornithin unter den Digestionsprodukten nachzuweisen.

Zwei andere Versuche, welche unter den gleichen Bedingungen angestellt wurden, wie sie oben geschildert sind, zeigten übereinstimmend, daß bei der Digestion des Arginins mit dem Stierhodenpreßsaft stets der Abbau in Harnstoff und Ornithin erfolgte. Es kann also kein Zweifel darüber bestehen, daß ein Ferment in Stierhoden vorkommt, welches befähigt ist, das Arginin unter Bildung von Harnstoff und Ornithin zu spalten.

## II. Desamidasen.

(Bearbeitet von Dr. K. Kato.)

J. Mochizuki und Y. Kotake<sup>1)</sup> haben durch sorgfältige Untersuchungen festgestellt, daß bei der Autolyse der Stierhoden allmählich der durch Magnesia austreibbare Stickstoff zunimmt. Auf Grund dieser Beobachtung glaubten sie annehmen zu dürfen, daß die langdauernde Autodigestion der Stierhoden

<sup>1)</sup> J. Mochizuki und Y. Kotake, Diese Zeitschrift. Bd. 43, S. 166.

Ammoniakbildung verursacht, denn der Magnesiastickstoff besteht im wesentlichen aus Ammoniak.

S. Lang<sup>1)</sup> prüfte die Stierhoden auf ihre Fähigkeit, aus den zugesetzten Aminoverbindungen Ammoniak abzuspalten, und kam zum Resultat, daß bei der Digestion des Asparagins und Glukosaminchlorhydrates mit zerriebener Hodenmasse unter Zusatz von Toluol der Stickstoff des ersteren völlig und der des letzteren teilweise als Ammoniak abgespalten wurden, während das Glykokoll unter denselben Bedingungen fast unverändert blieb. Bemerkt sei hier, daß die Zerlegung des Asparagins und Glykosaminchlorhydrates nicht durch gekochten Stierhoden erfolgte.

Da S. Lang nichts über das Verhalten des Harnstoffes gegen Stierhoden angegeben hat, und da die tierischen Desamidasen nicht wahllos auf die Aminoverbindungen einwirken, so ist es von Interesse, zu prüfen, ob nicht ein Harnstoff spaltendes Ferment in den Stierhoden enthalten sei?

### Versuch 1.

Die fein zerriebene Hodenmasse wurde mit dem doppelten Volumen chloroformhaltiger Ringerscher Lösung (10 ccm Chloroform in 1 l) durchgeschüttelt und nach 12stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur abkolliert. Um die Wirkung dieses Auszuges auf Glykokoll, Asparagin und Harnstoff zu ermitteln, verfahren wir wie folgt:

Probe a)	50 ccm Extrakt ohne Zusatz	} Mit Toluol überschichtet und 96 Stunden im Brutofen digeriert. <sup>2)</sup>
» b)	50 » » + 0,5 g Glykokoll	
» c)	50 » » + 0,5 » Asparagin	
» d)	50 » » + 0,5 » Harnstoff	

Bei allen digerierten Proben haben wir das Eiweiß nach der Vorschrift von P. Rona und L. Michaelis<sup>3)</sup> mit kolloidalem Eisenoxyd und Magnesiumsulfat entfernt und das Am-

<sup>1)</sup> S. Lang, a. a. O.

<sup>2)</sup> Die Sterilität der digerierten Proben wurde durch Ausstriche auf einen festen Nährboden und Impfung in schwach alkalische Bouillonlösung festgestellt.

<sup>3)</sup> P. Rona und L. Michaelis. Biochem Zeitschrift, Bd. 7, S. 332.

moniak in der eiweißfreien Flüssigkeit nach der Angabe von M. Krüger und O. Reich<sup>1)</sup> bestimmt.

Digestionsdauer in Stunden	Menge des gefundenen Ammoniaks in mg			
	Probe a	Probe b	Probe c	Probe d
96	25,9	25,9	170,6	25,9

### Versuch 2.

Probe a) 50 ccm Extrakt ohne Zusatz	} Mit Toluol überschichtet und 96 Stunden bei Bruttem- peratur digeriert. <sup>2)</sup>
b) 50 " + 0,5 g Asparagin	
c) 50 " + 0,5 g Harnstoff	

Die Herstellung des Hodenextraktes und die Bestimmung des Ammoniaks erfolgten genau nach dem bei Versuch 1 benutzten Verfahren.

Digestionsdauer in Stunden	Menge des gefundenen Ammoniaks in mg		
	Probe a	Probe b	Probe c
96	20,5	170,6	20,5

### Versuch 3.

Probe a) 50 ccm gekochten Extraktes + 0,5 g Asparagin	} Mit Toluol über- schichtet und 120 Stunden bei Bruttem- peratur digeriert. <sup>2)</sup>
b) 50 ccm Extrakt + 0,5 g Asparagin	

Die Bereitung des Hodenextraktes und die Bestimmung des Ammoniaks geschahen auf die oben beschriebene Weise.

Digestionsdauer in Stunden	Menge des gefundenen Ammoniaks in mg	
	Probe a	Probe b
120	6,0	54,0

<sup>1)</sup> M. Krüger und O. Reich, Diese Zeitschrift, Bd. 39, S. 165.

<sup>2)</sup> Die Sterilität der digerierten Proben wurde durch Ausstrich auf einem festen Nährboden und Impfung in schwach alkalischer Bouillonlösung festgestellt.

In Bestätigung der Angabe von S. Lang zeigen die vorstehenden Versuche, daß die Stierhoden ein Asparagin spaltendes Ferment enthalten, welches durch Kochen völlig vernichtet wird. Das Glykokoll und der Harnstoff aber scheinen nicht durch Stierhoden angegriffen zu werden. Somit ist die Frage nach dem Vorkommen der Urease in Stierhoden im negativen Sinne entschieden.

### III. Nuclease.

Trasaburo Araki<sup>1)</sup> unterwarf zuerst das Verhalten der Thymusnucleinsäure gegen Leber- und Milzextrakt einer genaueren Prüfung und fand dabei, daß unter dem Einfluß von diesen beiden Organextrakten eine Umwandlung der gelatinösen Thymusnucleinsäure erfolgt, indem aus ihr eine leichter lösliche Säure entsteht. Er zeigte ferner, daß bei langdauernder Digestion der Darmschleimhaut der Gehalt derselben an Gesamtnucleinsäure eine erhebliche Abnahme erfährt. Kurz darauf erbrachte F. Sachs<sup>2)</sup> den Nachweis dafür, daß ein Nucleinsäure spaltendes Ferment, eine Nuclease, in der Pankreasdrüse enthalten ist, welche leicht durch Trypsin zerstört wird. Zu ähnlichen Resultaten führten auch die Versuche von Emil Abderhalden und Alfred Schittenhelm,<sup>3)</sup> welche zu dem Zwecke angestellt wurden, Aufschluß über den Ab- und Aufbau der Nucleinsäure im tierischen Organismus zu gewinnen. Hier ergaben sich nämlich eine Reihe von Tatsachen, welche auf das Vorkommen der Nuclease in einem wässrigen Extrakte von Rinderpankreas und Rinderdarm hinweisen.

Bezüglich der Verbreitung der Nuclease im Pflanzenreich verweise ich auf die nachstehende Abhandlung von K. Kato.

### Versuch 1.

200 g zerhackter Stierhoden wurden mit der doppelten

<sup>1)</sup> T. Araki, Diese Zeitschrift, Bd. 38, S. 84.

<sup>2)</sup> F. Sachs, Diese Zeitschrift, Bd. 46, S. 337.

<sup>3)</sup> E. Abderhalden u. A. Schittenhelm, Diese Zeitschrift, Bd. 47, S. 452.

Wassermenge extrahiert und vom Auszug 3 gleiche Portionen von je 50 ccm abgemessen.

Portion A. 5 g thymusnucleinsaures Natrium wurden in 150 ccm gelöst, mit 50 ccm des obigen Extraktes versetzt und 72 Stunden lang unter Zusatz von 15 ccm Toluol im Brutschrank digeriert. Die Flüssigkeit wurde nun mit 20 g Natriumacetat versetzt und mit einer 20%igen Tanninlösung gefällt, solange ein Niederschlag entstand, der Niederschlag abfiltriert und mit einer 10%igen Natriumacetatlösung ausgewaschen. Zur Entfernung des überschüssigen Tannins wurden Filtrat und Waschwasser vereinigt, mit Bleiessig versetzt, solange noch die Entstehung eines Niederschlages zu beobachten war, die vom Bleitannat abfiltrierte Lösung dann durch Schwefelwasserstoff von gelöstem Blei befreit. Die bleifreie Flüssigkeit wurde zum Vertreiben des Schwefelwasserstoffes im Vakuum bei 35 bis 40° auf ca. 100 ccm eingeeengt und mit einer ammoniakalischen Silberlösung gefällt. Diese Silberfällung, welche hauptsächlich aus Silberverbindungen der Purinbasen bestand, wurde mit Wasser ammoniakfrei gewaschen und zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwendet; es wurden gefunden: 0,0996 g Purinbasenstickstoff.

Portion B. 5 g thymusnucleinsaures Natrium wurden in 150 ccm gelöst, mit 50 ccm Hodenextrakt versetzt, eine Stunde lang gekocht und dann nach dem Ersatz des verdunsteten Wassers bei Gegenwart von 15 ccm Toluol im Brutschrank digeriert. Nach 72stündiger Digestion wurde die Flüssigkeit genau nach oben beschriebem Verfahren auf Purinbasenstickstoff verarbeitet. Die Menge des gefundenen Purinbasenstickstoffs betrug 0,0201 g.

Portion C. 50 ccm Hodenextrakt + 150 ccm Wasser + 15 ccm Toluol. Nach 72stündiger Digestion wurde die Flüssigkeit auf die gleiche Weise behandelt wie die Portionen A und B.<sup>1)</sup> Die Menge des gefundenen Purinbasenstickstoffs betrug 0,426 g.

<sup>1)</sup> Die Sterilität der Portionen A, B und C wurde durch Ausstriche auf einem festen Nährboden und Impfung in schwach alkalischer Bouillonlösung festgestellt.

Der besseren Übersicht halber sind die Resultate in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 1.

Num- mer	Dauer der Digestion in Stunden	Menge des verwandten Extraktes und Wassers in ccm	Menge des zuge- setzten thymus- nucleinsauren Natriums in g	Menge des gefunde- nen Purin- basen-N in g	Bemerkungen
A	72	50 + 150	5	0,0996	nicht gekocht
B	72	50 + 150	5	0,0201	gekocht
C	72	50 + 150	0	0,0426	nicht gekocht

## Versuch 2.

Aus fein zerhackter Hodemasse wurde der Preßsaft nach dem Verfahren von E. Buchner hergestellt und in 3 gleiche Portionen von je 75 ccm geteilt.

Portion A. 75 ccm Preßsaft + 2 g thymusnucleinsaures Natrium in 100 ccm Wasser gelöst + 2,5 ccm Chloroform + 10 ccm Toluol. Nach 84stündigem Verbleiben im Brutschrank wurde die Mischung durch Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Essigsäure und Kochen möglichst von Eiweißstoffen befreit und dann zur Fällung der Phosphorsäure mit Ammoniak- und Magnesiummischung versetzt; es wurden gefunden: 0,21045 g  $Mg_2P_2O_7$  = 0,12835 g  $P_2O_5$ .

Portion B. 75 ccm Preßsaft + 100 ccm Wasser + 2,5 ccm Chloroform + 10 ccm Toluol. Nach 84stündiger Digestion bei Bruttemperatur wurde die Mischung ebenso behandelt, wie Portion A. Es wurden gefunden: 0,14535 g  $Mg_2P_2O_7$  = 0,09261 g  $P_2O_5$ .

Portion C. 75 ccm Preßsaft + 2 g thymusnucleinsaures Natrium in 100 ccm Wasser gelöst. Die Mischung wurde gekocht und nach dem Ersetzen des verdampften Wassers und unter Zusatz von 2,5 ccm Chloroform und 10 ccm Toluol bei Bruttemperatur digeriert.<sup>1)</sup> Bei der nach 84stündiger Digestion

<sup>1)</sup> Die Sterilität der Portionen A, B und C wurde durch Ausstriche auf einem festen Nährboden und Impfung in schwach alkalischer Bouillonlösung festgestellt.

ausgeführten Phosphorsäurebestimmung wurden in der Mischung gefunden:  $0,07590 \text{ g Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,04836 \text{ g P}_2\text{O}_5$ .

Tabelle 2.

Num- mer	Dauer der Digestion in Stunden	Menge des verwandten Pfeffersaftes und Wassers in ccm	Menge des zuge- setzten thymus- nucleinsäuren Natriums in g	Menge des ge- fundenen $\text{P}_2\text{O}_5$ in g	Bemerkungen
A	84	75 + 100	2	0,12835	nicht gekocht
B	84	75 + 100	0	0,09261	»
C	84	75 + 100	2	0,04836	gekocht

Aus den erwähnten Versuchen läßt sich schließen, daß eine Nuclease im Stierhoden enthalten ist, welche bei neutraler oder schwach saurer Reaktion nicht allein die in Hodengeweben vorhandenen Nucleoproteide, sondern auch die zugesetzte Thymusnucleinsäure in Purinbasen und Phosphorsäure zu spalten vermag.

Im Anschluß an die erwähnte Tatsache möchte ich hier hervorheben, daß D. Barfurth<sup>1)</sup> bereits an den Hoden der Bachforelle beobachtet hat, daß unter normalen Verhältnissen die Verflüssigung der Geschlechtsstoffe stattfindet. Dieser Befund kann sicher auch durch das Vorkommen einer wirksamen Nuclease erklärt werden.

#### IV. Ein Salicin spaltendes Ferment.

Daß die Organe der Säugetiere spaltend auf Salicin, sowie Helicin und Arbutin einwirken, scheint H. Grisson<sup>2)</sup> zuerst erkannt zu haben. Er digerierte die genannten Glykoside mit der aus dem eben getöteten Kaninchen entnommenen Leber und Niere und konnte konstatieren, daß dieselben dabei eine Spaltung erlitten. Die Muskeln und das Blut dagegen zeigten unter denselben Bedingungen keine spaltende Wirkung.

<sup>1)</sup> D. Barfurth, Archiv f. mikroskop. Anatomie, Bd. 27, S. 128.

<sup>2)</sup> H. Grisson, Malys Jahresbericht, Bd. 17, S. 91.

Aus den Versuchen von Kaoru Omi<sup>1)</sup> ergab sich: «die Leber und Niere des Pflanzenfressers (Kaninchen, Hammel, Rind und Schwein) enthalten ein Salicin spaltendes Enzym, das in den Organextrakten der Fleischfresser in manchen Fällen nicht, in anderen nur mit schwacher Wirkung nachweisbar ist.» Im Anschluß an diese Versuche teilte er die merkwürdige Beobachtung mit, daß die Leber von Hunden dann eine «Emulsinwirkung» zeigte, wenn ihnen vorher das Pankreas exstirpiert wurde.

Diese letztere Beobachtung aber konnte Chosaburo Kusumoto<sup>2)</sup> nicht bestätigen, indem er geringere Ausscheidung der Ätherschwefelsäuren nach Eingabe von Salicin beim pankreaslosen Hunde fand, als beim normalen.

Zur Entscheidung der Frage, ob die Stierhoden auch imstande seien, Salicin zu spalten, stellte ich die folgenden Versuche an.

#### Versuch 1.

Die frischen Stierhoden wurden von der Kapsel befreit und zerhackt; von der zerhackten Masse wurden zwei Portionen zu je 25 g abgewogen und auf die folgende Weise behandelt.

Portion A. 25 g Hodenmasse + 2 g Salicin + 250 ccm Chloroformwasser. Nach 12stündigem Verbleiben im Brutschrank wurde die Mischung koliert, zum Sieden erhitzt, tropfenweise mit verdünnter Essigsäure versetzt und filtriert. Das Filtrat wurde nach dem Erkalten ausgeäthert, die ätherischen Auszüge verdunstet, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit einem Tropfen Eisenchloridlösung versetzt: es trat sofort eine Blaufärbung ein.

In dem nicht in den Äther übergegangenen Anteile konnte ich nicht mit Sicherheit Traubenzucker nachweisen.

Portion B. 25 g Hodenmasse + 2 g Salicin + 250 ccm Chloroformwasser. Die Mischung wurde nach dem Kochen 12 Stunden lang im Brutschrank digeriert, darauf in der gleichen Weise behandelt, wie die Portion A.<sup>3)</sup> Im Ätherextrakt ließ

<sup>1)</sup> K. Omi, Biochem. Zeitschrift, Bd. 10, S. 258.

<sup>2)</sup> Ch. Kusumoto, Biochem. Zeitschrift, Bd. 10, S. 264.

<sup>3)</sup> Die Portionen A und B erwiesen sich als steril.

sich keine Spur von der Substanz nachweisen, welche die Eisenchloridreaktion gibt.

### Versuch 2.

300 g zerhackte Hodenmasse wurde mit 1500 ccm Chloroformwasser durchgeschüttelt, 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann koliert. Von diesem Extrakte wurden zwei Portionen zu je 250 ccm abgemessen und auf die folgende Weise behandelt.

Portion A. 250 ccm chloroformhaltiger Hodenextrakt + 2 g Salicin. Nach 12stündigem Stehenlassen im Brutofen verarbeitete ich die Mischung genau nach demselben Verfahren wie bei Versuch 1. Die wässrige Lösung, welche aus dem Ätherextrakt nach dem Verdunsten des Äthers hergestellt wurde, gab Eisenchloridreaktion.

Portion B. 250 ccm chloroformhaltiger Hodenextrakt + 2 g Salicin. Die Mischung wurde zuerst zum Sieden erhitzt und dann auf 12 Stunden in den Brutschrank gestellt. Die Verarbeitung der digerierten Lösung geschah nach demselben Verfahren wie bei Portion A.<sup>1)</sup> Die Eisenchloridreaktion, die mit der aus dem Ätherauszug bereiteten wässrigen Lösung an gestellt wurde, fiel negativ aus.

Aus den geschilderten Versuchen geht hervor, daß die Stierhoden die Spaltung des Salicins bewirken. Da nun diese Wirkung bei Ausschluß von Miroorganismen zustande kommt und nach dem Erhitzen völlig verschwindet, besteht kein Zweifel darüber, daß sie an das Vorkommen eines Salicin spaltenden Fermentes gebunden ist. Ob dieses Ferment mit dem Emulsin identisch ist, bleibt vorläufig dahingestellt, denn ich fand in Übereinstimmung mit der Angabe von C. Hervieux<sup>2)</sup> die Stierhoden völlig unwirksam auf Amygdalin.

### Resümee.

1. In Stierhoden kommt ein Ferment vor, welches die Fähigkeit besitzt, das Arginin in Ornithin und Harnstoff zu spalten.

<sup>1)</sup> Die Portionen A und B erwiesen sich als steril.

<sup>2)</sup> C. Hervieux, a. a. O.

2. Die Intensität der desamidierenden Wirkung der Stierhoden wechselt sehr bei verschiedenen Aminoverbindungen; so beobachtet man reichliche  $\text{NH}_3$ -Bildung durch Stierhodenextrakt aus Asparagin, während das Glykokoll und der Harnstoff unter gleichen Bedingungen keine nennenswerte Zerlegung erleiden. Ob dieser Unterschied in bezug auf die desamidierende Wirkung in dem Sinne zu erklären ist, daß es verschiedene Fermente gibt, die nur auf bestimmte Aminoverbindungen einwirken, muß durch weitere Untersuchung entschieden werden.

3. Ein nucleinsäurespaltendes Ferment läßt sich mit Sicherheit in Stierhoden nachweisen. Es scheint der vollständige Abbau der Nucleinsäuren durch dieses Ferment zustande gebracht zu werden.

4. Der Stierhodenauszug wirkt, wenn auch nicht energisch, spaltend auf Salicin ein, nicht aber auf Amygdalin.

---