

519. H. v. Tappeiner: Ueber die Wirkung fluorescirender Substanzen auf Fermente und Toxine.

[Pharmakologisches Institut München.]

(Eingegangen am 13. August 1903.)

In einer auf meine Veranlassung ausgeführten Untersuchung von Dr. Raab¹⁾ wurde festgestellt, dass die giftige Wirkung fluorescirender Substanzen auf Infusorien im Lichte ausserordentlich gesteigert wird. Eine Lösung von salzsaurem Acridin 1:20000 z. B., in der Paramecien im Dunkeln noch nach 100 Stunden am Leben waren, tödtete in Sonnenlicht in 6—10 Minuten, bei zerstreutem Tageslicht in ca. 60 Minuten. In analoger Weise wirkten alle anderen untersuchten fluorescirenden Stoffe, verschiedene einfachere Acridinderivate, Phosphine, Eosin, Chinolinroth, Harmalin, Chinin. Nur Aesculin machte eine Ausnahme, es war im Hellen und im Dunkeln gleich unwirksam. Weitere Untersuchungen machten es sehr wahrscheinlich, dass die Erscheinung mit der Erregung der Fluorescenz im Zusammenhange steht. Sie ist allgemeinerer Natur, denn auch Zellen höherer Organismen (Flimmerepithel des Frosches) werden in gleicher Weise beeinflusst.

Die genannten merkwürdigen Beobachtungen gaben mir die Veranlassung, den Einfluss fluorescirender Substanzen auf Enzyme zu untersuchen bzw. untersuchen zu lassen. Es haben sich hierbei die HH. Dr. Stark, Tillmetz, Rehm und insbesondere Dr. Jodlbauer, Assistent des Institutes, betheilig.

Das erste Enzym, das untersucht wurde, war die Diastase in ihrem Verhalten zu Eosin. Es zeigte sich ganz regelmässig, dass dieser Körper die Verzuckerung der Stärke in bedeutendem Maasse hemmt, sobald die Versuchslösung dem gewöhnlichen Tageslichte ausgesetzt war. Im Dunkeln hingegen war er ohne jede Einwirkung. Ebenso war Tageslicht für sich allein ohne Einfluss. Auf Gleichhaltung aller sonstigen Verhältnisse, insbesondere der Temperatur, war selbstverständlich sorgfältig geachtet. Als Beleg sei folgender Versuch angeführt.

Versuchslösung	Gebildete Maltose in 5 Stunden	
	im Dunkeln	im Hellen (gutes Tageslicht)
0.85 pCt. Stärke + 0.01 Diastase in 100 Wasser	0.429 g = 75.0 pCt.	0.430 g = 76.8 pCt.
0.85 pCt. Stärke + 0.01 Diastase in 100 Wasser + 0.05 Eosin . .	0.428 » = 76.4 »	0.119 » = 21.3 »

Wie Eosin wirkte Magdalaroth, etwas schwächer Chinolinroth. Unwirksam waren Acridin, Dimethylphosphin, Uranin, Gallein,

¹⁾ Münchener med. Wochenschrift 1900, No. 1, und Zeitschr. f. Biologie 39 und 44.

Resorcinblau und Aesculin. In bemerkenswerthem Gegensatze zu lebenden Zellen (Infusorien, Flimmerepithel) wirkte also nur eine sehr beschränkte Anzahl von fluorescirenden Substanzen, und zwar soweit es sich jetzt schon überblicken lässt, nur jene, deren Lichtabsorption im grünen oder hellblauen Theil des Spectrums liegt.

Werden diese Strahlen von der Versuchslösung abgehalten, dadurch, dass man alles zutretende Licht vorher eine Lösung des in Versuch stehenden fluorescirenden Stoffes von 10 cm Schichtdicke passiren lässt, so hört die Wirkung auf. Die Maltosebildung ist dann in den so belichteten und den im Dunkeln gehaltenen Proben von gleicher Intensität. Mit der Absorption als solcher aber hat die Erscheinung trotzdem keine Beziehung, denn ähnlich absorbirende, aber nicht fluorescirende Stoffe, wie Krystallviolet, Fuchsin, Azofuchsin, Azorbordeaux besitzen diese Eigenschaft, die Wirkung der Diastase im Lichte zu hemmen, nicht.

Die Wirkung zeigt sich noch bei sehr grosser Verdünnung. Bei Eosin z. B. war noch in Verdünnung von 1:400000 nach 5 Stunden im Lichte um 4.8 pCt. weniger Maltose gebildet, als in der im Dunkeln gehaltenen Probe. Sie beruht sehr wahrscheinlich auf einer allmählich sich ausbildenden Schädigung resp. einer Zerstörung des Enzymes, nicht auf einer nur auf die Dauer der Lichtexposition beschränkten Hemmung. Die im obigen Belege angeführte Stärke-Diastase-Eosin-Lösung wurde nach 5 Stunden Lichtexposition in's Dunkle verbracht. Nach 18 weiteren Stunden war in ihr der Verzuckerungsprocess nur auf 0.258 g = 46 pCt. fortgeschritten, während die dauernd im Dunkeln gehaltene Probe um diese Zeit (und wahrscheinlich schon früher) das Maximum des Zuckergehaltes (0.560 g Maltose) annähernd erreicht hatte. Es ist demnach sehr wahrscheinlich, dass bei längerer Exposition die Wirkung des Enzyms dauernd aufgehoben worden wäre. Versuche hierüber stehen noch aus.

Das zweite untersuchte Enzym war das Invertin. Es verhält sich sehr ähnlich der Diastase. Als wirksam erwiesen sich auch hier Eosin, Magdalaroth und Chinolinroth, unwirksam waren alle übrigen, bei der Diastase angeführten, fluorescirenden Substanzen. Als Beleg sei wieder ein Versuch mit Eosin angeführt.

Versuchslösung	Gebildeter Invertzucker in 22 Stunden, davon 10 Nachtstunden	
	im Dunkeln	im Hellen (mässiges Tageslicht)
4.5 pCt. Rohrzucker mit 0.05 pCt. Invertin in 100 Wasser	4.25 g	4.25 g
4.5 pCt. Rohrzucker mit 0.05 pCt. Invertin in 100 Wasser + 0.05 Eosin . . .	4.10 » (91.0 pCt.)	2.90 » (64.4 pCt.)

Die Wirkung tritt auch hier noch bei äusserst geringem Zusatz von fluorescirender Substanz auf: Eine 22 Stunden (davon 9 Nachtstunden) exponirte Rohzucker-Invertin-Lösung, versetzt mit Eosin im Verhältniss von 1:1000000, ergab noch ein Minus von 5 pCt. Invertzucker gegenüber einer gleichen, dauernd im Dunkeln gehaltenen Probe.

Die Wirkung hört wie bei der Diastase auf, wenn die Lichtstrahlen, welche die Fluorescenz erzeugen, vorher abgefangen werden. Ebenso waren die dort aufgeführten, lediglich absorbirenden, nicht fluorescirenden Farbstoffe wirkungslos.

Als drittes, bisher untersuchtes Enzym wurde das eiweissverdauende **Papayotin** (Merck) gewählt. Seine Wirkung wird von Eosin, Magdalaroth und Chinolinroth im Lichte in analoger Weise gehemmt, wie jene der Diastase und des Invertins. Zum Unterschiede von diesen aber war hier auch von Wirkung Uranin (schwach) und Dimethylphosphin (sehr wenig). Wirkungslos waren Aesculin und die nur absorbirenden Farbstoffe Fuchsin und Azorbordeaux.

Als Beleg sei ein Versuch mit Eosin angeführt.

Versuchslösung: 2.7680 coagulirbares Eiweiss, 0.25 Papayotin, 100 Wasser.
Versuchsdauer: 24 Stunden, davon 10 Nachtstunden.

	Coagulirbares Eiweiss wieder erhalten	verdaut
Eiweiss + Papayotin allein	0.0988	64.4 pCt.
» » + Eosin 0.01 {	im Dunkeln 0.1026	63.0 »
	» Hellen 0.2390	13.7 »

Nach diesen Erfahrungen mit Enzymen war die Ausdehnung der Untersuchung auf **Toxine** sehr naheliegend. In einer in Verbindung mit Dr. Jodlbauer ausgeführten Versuchsreihe zeigte sich in der That, dass **Ricin**, in Lösung mit etwas Eosin 14 Stunden zerstreutem Tageslicht ausgesetzt, sein charakteristisches Agglutinirungsvermögen für rothe Blutkörperchen vollkommen verloren hatte, während eine ebenso lange exponirte, einfache Ricinlösung und eine mit Eosin versetzte, im Dunkeln aufbewahrte Lösung unverändert wirksam waren. Auch die allgemeine Giftigkeit des Ricins wurde durch Eosin im Lichte aufgehoben resp. bedeutend vermindert. 0.0003 g Ricin aus obiger einfacher Lösung oder aus der mit Eosin versetzten, im Dunkeln gehaltenen Lösung tödteten Meerschweinchen nach 36 Stunden. Von der mit Eosin versetzten und belichteten Lösung aber waren selbst 0.003 g, also die 10-fache Dosis, nicht hinreichend, den Tod zu bewirken. Die Thiere wurden nur vorübergehend krank.

Wie das Eosin, verhielt sich Uranin, etwas schwächer wirkte Magdalaroth, Chinolinroth und Harmalin, am schwächsten Dimethylphosphin. Unwirksam waren Aesculin und die vier nicht fluorescirenden Farbstoffe Krystallviolet, Fuchsin, Azofuchsin, Azorbordeaux.

Auf das Ricin wirken also im Gegensatze zu den saccharificirenden Enzymen eine grössere Anzahl von fluorescirenden Stoffen; das

Ricin steht in diesem Verhalten den Zellen (Paramecien, Flimmer-epithel) am nächsten. Das peptonisirende Papayotin scheint eine Mittelstellung einzunehmen.

Das Ungiftigwerden des dem Lichte und der fluorescirenden Substanz ausgesetzten Ricins lässt kaum eine andere Deutung zu, als dass dieses Toxin dabei eine dauernde Zustandsänderung erfahren habe. Für eines der Enzyme (Diastase) ergab sich dies aus anderen Beobachtungen schon mit Wahrscheinlichkeit. Es wird darum auch kaum zu erwarten sein, dass fluorescirende Substanzen auf anorganische, nur langsam veränderliche Katalysatoren Einfluss haben werden. Doch soll dies in Bälde untersucht werden; ebenso das Verhalten der Zymase. Ich beabsichtige ferner, die Wirkung von Röntgen- und Radium-Strahlen für sich und in Combination mit fluorescirenden Substanzen in den Kreis der Untersuchung zu ziehen, und bitte daher, mir dieses Gebiet, inclusive seiner eventuellen, bereits in Angriff genommenen therapeutischen Verwerthung, für einige Zeit reservirt zu lassen.

520. Emil Baur: Nochmals die Autoxydation der Cerosalze.

(Eingegangen am 15. August 1903.)

Hr. Engler theilte im vorigen Heft dieser Berichte¹⁾ Versuche über die Sauerstoffabsorption alkalischer Cerolösungen mit, die denjenigen sehr ähnlich sind, die ich vor einiger Zeit an anderer Stelle veröffentlicht habe²⁾. Er ist aber zu einem abweichenden Ergebniss gekommen. Während ich fand, dass im Grenzfalle auf ein Atom Cer anderthalb Atome Sauerstoff aufgenommen werden, findet Hr. Engler eine Absorption von höchstens einem Atom Sauerstoff.

Da die Sache von einiger Wichtigkeit ist, insofern, als Engler behauptet, dass bei der Sauerstoffactivirung durch Bildung von Peroxyden nur ein Activirungsverhältniss 1:1 gefunden werden könne, während beim Cer nach meinen Versuchen ein Activirungsverhältniss von 2:1 thatsächlich besteht, so will ich nicht versäumen, festzustellen, dass ich das Ergebniss meiner früheren Versuche durchaus aufrecht erhalten muss. Ich habe dieselben neuerdings mit dem gleichen, ja mit noch entschiedenerem Erfolge wiederholt und will darüber in Kürze berichten.

Ich nehme eine gewöhnliche kegelförmige Saugflasche von etwa $\frac{3}{4}$ L Inhalt, fülle 30 ccm Kaliumcarbonatlösung 1:1 hinein, lasse dann aus der Pipette 10 ccm der Cerosalzlösung zufließen, schüttele um, verdünne mit 55 ccm Wasser, verschliesse den Hals der Saug-

¹⁾ Diese Berichte 36, 2642 [1903]. ²⁾ Zeitschr. f. anorg. Chem. 30, 251.