

beträgt, hatte also quantitative Reduktion zu *N, N*-Dimethyl-*p*-phenylendiamin stattgefunden. Während der Reduktion war die Farbe der ursprünglich grünen Lösung über braun schließlich in hellgelb übergegangen. Die alkohol. Lösung färbte sich an der Luft violett. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure wurde das Chlorhydrat zur Trockne gebracht, in Alkohol gelöst und mit Tierkohle entfärbt. Auf Zusatz von Äther schied sich das Salz als Krystallbrei aus. Schmp. 203° unt. Zers.

0.20 g Subst.: 0.271 g AgCl.

$C_8H_{12}N_2, 2HCl$. Ber. HCl 34.88. Gef. HCl 34.64.

Zur Identifizierung des Dimethyl-*p*-phenylendiamins wurde es einerseits in das *p*-[Benzyliden-amino]-*N*-dimethyl-anilin, $C_6H_5, CH:N.C_6H_4.N(CH_3)_2$, vom Schmp. 93°, andererseits in das bei 130° schmelzende Acetyl-derivat übergeführt.

5. Heinrich Wieland und Hermann Sutter: Beiträge zur Wirkungsweise von Oxydasen und Peroxydasen. (XXII. Mitteil. über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge).

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayr. Akademie d. Wissenschaften zu München.]
(Eingegangen am 8. November 1929.)

Im letzten Jahre¹⁾ haben wir über die Ergebnisse einer Untersuchung der thermolabilen Pilz-Oxydase aus *Lactarius vellereus* berichtet. Wir wollen jene Abhandlung jetzt ergänzen durch unsere Beobachtungen an dem gleichartigen Enzym der Kartoffel.

In der Untersuchung der Peroxydase-Wirkung fehlt bisher noch eine systematische Feststellung darüber, ob dieses Enzym außer Hydroperoxyd auch andere, substituierte Peroxyde aktivieren kann. Davon handelt der zweite Teil dieser Mitteilung.

I.

Die Oxydase-Wirkung pflanzlichen und tierischen Materials ist meistens durch Farbstoff-Bildung qualitativ ermittelt worden. Die Guajac-Tinktur hat dabei eine wichtige Rolle gespielt; in neuerer Zeit bedient man sich vielfach der Kombination von α -Naphthol und *p*-Phenylendiamin, aus der bei der Dehydrierung der Base ein Indophenol-Farbstoff entsteht. Zu colorimetrischen Methoden ausgestaltet, mögen diese Reagenzien auch für qualitative Zwecke brauchbar sein. Wir haben es vorgezogen, durch volumetrische Bestimmung des bei der Dehydrierung von Hydrochinon oder Brenzcatechin verbrauchten Sauerstoffs ein Maß für die Enzym-Wirkung zu erhalten.

Verteilung des Enzyms zwischen Schale und Fleisch: Gewaschene Kartoffeln wurden zweimal durch eine Fleischhackmaschine getrieben; das Gleiche geschah mit Schalen derselben Sorte. Je 1 g der beiden Präparate wurde in jeweils drei gleichen Ansätzen von nachstehender

¹⁾ B. 61, 1060 [1928].

Zusammensetzung in dem früher beschriebenen Schüttelapparat mit Luft 20 Min. bei 20° geschüttelt.

Zusätze: 5 ccm $m/4$ -Hydrochinon-Lösung und 5 ccm $m/8$ - KH_2PO_4 -Lösung.

I—III Brei ganzer Knollen. IV—VI Brei von Schalen. VII ohne Hydrochinon.

	I	II	III	IV	V	VI	VII
ccm O_2	2.4	2.7	2.7	5.4	5.2	5.8	0

Noch größer wird der Unterschied naturgemäß, wenn man Brei von Schalen (I) mit dem Brei geschälter Kartoffeln (II) vergleicht.

Je 3 g Brei wurden 15 Min. mit 10 ccm $m/4$ -Hydrochinon unter Luft geschüttelt.

	I	II
ccm O_2	3.7	0.97

Das Enzym ist daher in den Schalen in rund der 4-fachen Aktivität enthalten, wie in der schalen-freien Knolle. Die absolute Wirksamkeit wechselt bei verschiedenen Kartoffelsorten innerhalb weiter Grenzen (bis zu 500% nach beiden Seiten).

Der Trockengehalt von Preßsaft aus Schale und Knolle ist ungefähr gleich; er beträgt von dem bei 110° getrockneten Saft 3.0 bzw. 3.4%.

Der Verlauf der Sauerstoff-Aufnahme: Verfolgt man die Reaktion zeitlich von 10 zu 10 Min., so findet man, daß der Sauerstoff-Verbrauch trotz großen Überschusses von Hydrochinon und von Sauerstoff pro Zeiteinheit abnimmt. Das gebildete Chinon ist, wie besondere Versuche, bei denen von Anfang an Chinon zugefügt wurde, lehrten, nicht die Ursache dieser Aktivitäts-Minderung.

A. 2 Versuche mit frischem Schalenpreßsaft. 2.0 ccm Saft, 5 ccm $m/4$ -Hydrochinon + 5 ccm $m/8$ - KH_2PO_4 .

Zeit (Min.)	10	20	30	40	50
ccm O_2 } I	0.8	1.8	2.5	3.1	3.5
	II	1.0	2.0	2.7	3.3

B. 3 Versuche mit frischem Kartoffelbrei. Je 2 g mit gleichen Zusätzen wie unter A.

Zeit (Min.)	10	20	30	40	50	60	
ccm O_2 } I	0.9	2.0	2.8	3.4	3.9	4.1	
	II	1.2	2.3	3.0	3.7	4.1	4.2
	III	1.2	2.3	3.1	3.8	4.2	4.6

Die Versuche A II und B II sind im Kurvenbild (Fig. 1) wiedergegeben. Der Abstand der einzelnen Meßpunkte von der gestrichelten Geraden, die den linearen Verlauf angibt, kennzeichnet die Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeit. Bei der Pilz-Oxydase vollzog sich der Sauerstoff-Verbrauch linear, im Sinne einer Reaktion nullter Ordnung.

Wir haben als Ursache der abnehmenden Reaktionsgeschwindigkeit die schädigende Wirkung des Sauerstoffs erkannt, die man auch bei den dehydrierenden Fermenten der Milch angetroffen hat^{1a)}. Aber es besteht ein Unterschied, indem dort die Herabsetzung der Reaktionsgeschwindigkeit funktioneller Natur ist, d. h. während der Reaktion in Erscheinung tritt, während im Falle der Kartoffel-Phenolase die Berührung mit dem Gas allein zu einer Verminderung der Aktivität führt.

^{1a)} vergl. XXI. Mitteil. A. 477, 60 [1929].

Wir haben die Enzym-Präparate vergleichend unter Luft, Stickstoff und Kohlendioxyd, ohne Hydrochinon, geschüttelt und hernach die Wirksamkeit diesem gegenüber geprüft.

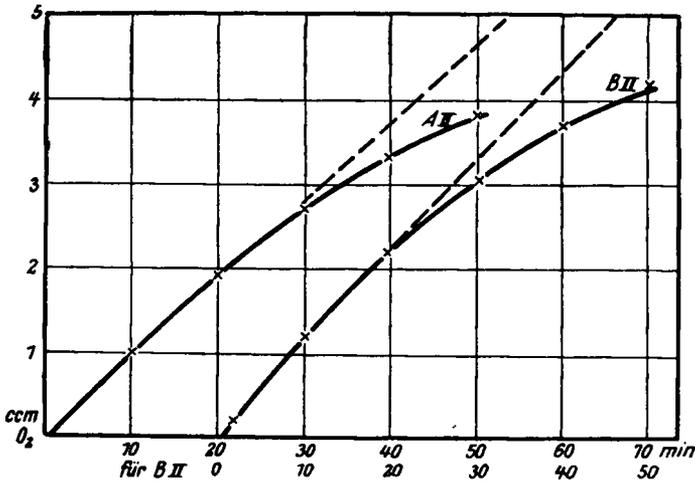


Fig. 1.

Gleiche Mengen von frischem Schalenpreßsaft wurden in 3 Erlenmeyer-Kolben die gleiche Zeit mit N₂, O₂ und CO₂ durchströmt, mit gleicher Geschwindigkeit des Gasstroms, der in einer vorgeschalteten Waschflasche 3 Blasen pro Sek. bildete.

I. Stickstoff und Sauerstoff. a) Nach 30 Min. langem Einleiten wurden je 2-mal 2 ccm des Preßsaftes in der üblichen Weise mit Hydrochinon unter Luft geschüttelt.

$$\text{ccm O}_2 \left\{ \begin{array}{l} \text{mit N}_2 \text{ vorbehandelt: } 6.6 \text{ und } 6.4. \\ \text{mit O}_2 \text{ vorbehandelt: } 1.0 \text{ und } 0.9. \end{array} \right.$$

b) Einwirkung von N₂ und O₂ je 90 Min. Je 2-mal 3 ccm wurden wie unter a) 30 Min. unter Luft geschüttelt.

$$\text{ccm O}_2 \left\{ \begin{array}{l} \text{mit N}_2 \text{ vorbehandelt: } 1.1 \text{ und } 1.3. \\ \text{mit O}_2 \text{ vorbehandelt: } 0.43 \text{ und } 0.40. \end{array} \right.$$

II. Kohlendioxyd und Sauerstoff. a) Einwirkung der Gase 60 Min. 2 ccm Saft 50 Min. mit Hydrochinon unter Luft geschüttelt, b) Einwirkungszeit 90 Min., sonst wie unter a).

$$\text{ccm O}_2 \left\{ \begin{array}{l} \text{a) mit CO}_2 \text{ vorbehandelt } 2.4 \text{ und } 2.1. \\ \quad \quad \quad \text{O}_2 \quad \quad \quad \quad \quad 0.69 \text{ ,, } 0.50. \\ \text{b) ,, CO}_2 \quad \quad \quad \quad \quad 1.8 \\ \quad \quad \quad \text{O}_2 \quad \quad \quad \quad \quad 0.63 \text{ ,, } 0.53. \end{array} \right.$$

Die Schädigung durch Sauerstoff ist sehr bedeutend und erweist sich als stärker bei Abwesenheit von Substrat als in dessen Gegenwart, wie namentlich Versuch 1a im Vergleich zu den vorangehenden Versuchen zu erkennen gibt. Es sieht so aus, als ob ein enzymatischer Bestandteil gegen Sauerstoff indifferent wäre, da die beiden Versuche unter II nach 60 und nach 90 Min. den gleichen Grad der Schädigung aufweisen. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei I, wo der Endpunkt nach 30 Min. noch nicht ganz erreicht ist. Auch N₂ und CO₂ sind nicht ohne Einfluß auf die Aktivität des Ferments.

Die schädigende Wirkung des Sauerstoffs läßt sich auch verfolgen, wenn man den Preßsaft an der Luft stehen läßt und von Zeit zu Zeit seine Wirksamkeit prüft.

Je 200 ccm ließ man unter Zugabe von etwas Thymol stehen:

a) in offener Schale, b) im Kolben unter Stickstoff.

Zur Prüfung kamen jeweils 3 ccm Saft + 5 ccm $m/5$ - KH_2PO_4 + 5 ccm $m/4$ -Hydrochinon.

Zeit	ccm O_2			
	a)		b)	
0 Min.	4.6	5.1	4.8	4.8
60 „	3.5	2.8	4.3	4.4
120 „	1.5	1.9	3.8	4.2
17 Std.	0	0	0.56	0.57

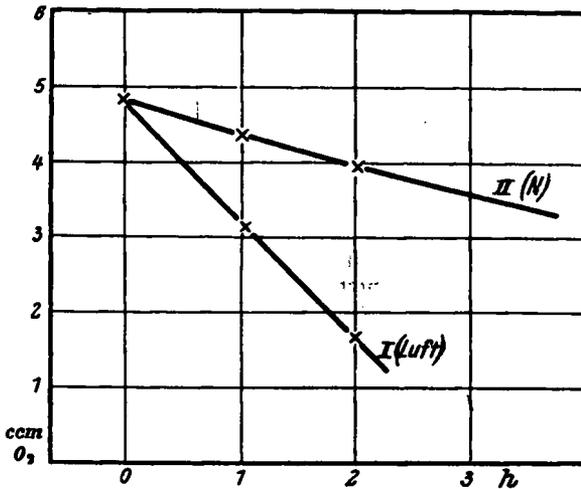


Fig. 2.

Abnahme der Wirksamkeit an der Luft (I), unter N_2 (II).

Man könnte daran denken, daß die Wirkung des Sauerstoffs in der Erzeugung von Hemmungskörpern in der Enzym-Lösung ihre Ursache habe. Dies ist auf Grund des folgenden Versuchs unwahrscheinlich. Durch 2 Proben von Schalenpreßsaft wurde 90 Min. einmal Stickstoff (I), dann Sauerstoff (2) geleitet. Sodann fügte man 20 ccm von I zu 30 ccm von 2 und leitete durch das Gemisch, wie auch durch den Saft I eine weitere Stunde Stickstoff. Wären nun in 2 Hemmungskörper gebildet worden, so hätte man erwarten sollen, daß durch sie auch das noch wirksame Ferment des zugemischten Saftes I inaktiviert sei. Indessen war die Wirksamkeit der beiden Säfte die gleiche.

I. 5 ccm Mischsaft, II. 2 ccm von I + 3 ccm H_2O wurden in dem üblichen Ansatz mit Hydrochinon 50 Min. unter Luft geschüttelt. Je 2 Parallelversuche.

ccm O_2	I	1.2 und 1.2,
	II	1.2 und 1.0.

Daß die Schädigung der Kartoffel-Phenolase nicht auf den Sauerstoff selbst, sondern wie im Falle der Xanthin-Dehydroase²⁾ auf primär gebildetes Hydroperoxyd zurückzuführen sei, ist deshalb nicht einleuchtend, weil die untersuchten Enzym-Präparate reich an Katalase sind. Allerdings ist man über die in Betracht kommenden Reaktionsgeschwindigkeiten nicht unterrichtet.

Die Hemmung der Kartoffel-Phenolase durch Blausäure: Eine Versuchsreihe darüber ist bereits in der zitierten Abhandlung wiedergegeben. Sie wurde mit einem aus Schalenpreßsaft durch Alkohol gefällten Präparat ausgeführt. 720 ccm Preßsaft wurden mit 2880 ccm Alkohol gefällt, nach $\frac{1}{2}$ -stdg. Stehen wurde zentrifugiert. Man erhielt 12.5 g eines graubraunen, in Wasser nicht völlig löslichen Präparats, das viel anorganische Salze enthielt (in 2 Bestimmungen 24.7 und 24.9%). Mit ihm wurde der bereits mitgeteilte Hemmungsversuch ergänzt.

3 Ansätze. Jeweils 0.1g Enzym-Präparat + 10 ccm $m/4$ -Phosphat-Puffer $p_H = 6.0$, dem die jeweils gewünschte Menge Blausäure zugefügt war, dazu 5 ccm $m/4$ -Brenzcatechin.

Diese Ansätze wurden in 3 Reihen 10 Min. lang unter Sauerstoff geschüttelt. $T = 20^\circ$.

HCN	—	$n/10000$	$n/5000$	$n/2000$	$n/1000$	$n/500$
I	2.38	2.33	2.33	1.40	0.71	0.36
II	2.60	2.16	2.06	1.17	0.83	0.24
III	2.80	1.75	1.54	1.03	0.46	0.23

Die Kurve (Fig. 3) gibt die durchschnittliche Hemmung durch HCN wieder.

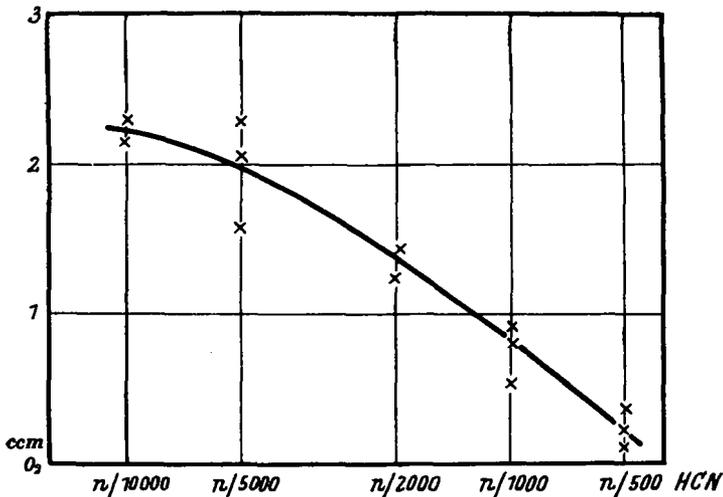


Fig. 3.

Eine noch größere Empfindlichkeit gegen Sauerstoff zeigt nach Versuchen von Dr. Hermann Mayer die Phenol-Oxydase des Apfels. Schüttelt

²⁾ Dixon, Biochem. Journ. 19, 507 [1925].

man den Brei von frischem Apfelfleisch mit Hydrochinon unter Luft in der gleichen Weise, wie dies für die Kartoffel beschrieben ist, so findet man kurze Zeit die gleiche Wirksamkeit wie dort. Aber sie geht im Verlauf der Reaktion viel rascher zurück, wie der Vergleich der Kurvenbilder Fig. 4 und 1 zeigt.

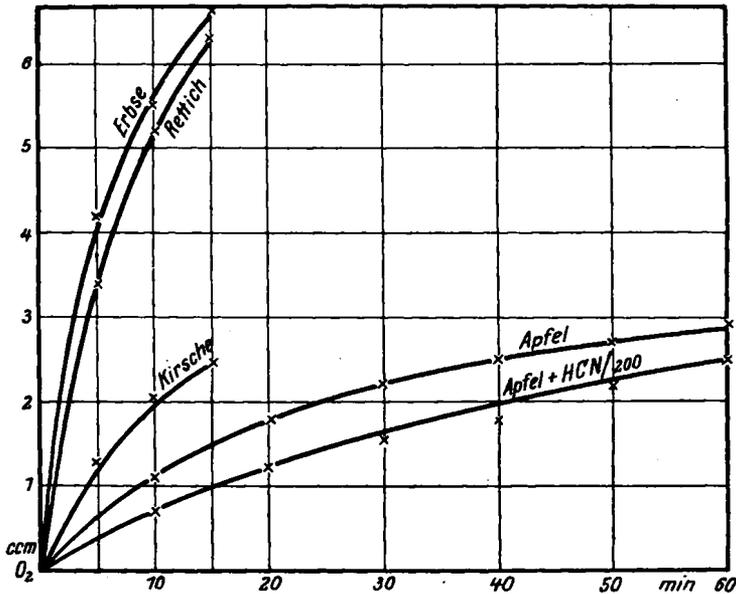


Fig. 4.

Enzymatische Wirksamkeit von verschiedenem pflanzlichen Material.

Die Empfindlichkeit gegen Blausäure ist hier viel geringer als bei dem Enzym der Kartoffel. Bei Gegenwart von $m/_{200}$ -HCN wird die Aktivität nur auf etwa 70% herabgesetzt. Läßt man frischen Apfelbrei an der Luft stehen, so ist er nach 3 Stdn. völlig inaktiv geworden (mehrere Versuche). Bewahrt man ihn unter Stickstoff auf, so bleibt die Wirksamkeit erhalten. Gleichzeitig scheint die Schädigung durch Sauerstoff von der Blausäure aufgehoben zu werden, denn Dr. Mayer findet hier beinahe linearen Reaktionsverlauf, und wenn man sich die Umsatz-Kurven auf Fig. 4 fortgesetzt denkt, so überschneidet die des HCN-haltigen Ansatzes sehr bald die des normalen. $m/_{1000}$ -HCN ist ohne jede Wirkung.

2 g Apfelbrei + 10 ccm $m/_{5}$ -Hydrochinon + 10 ccm $m/_{5}$ -Phosphat $p_H = 4.9$.
 $T = 20^\circ$.

	Zeit (Min.)	10	20	30	40	50	60
ccm O_2 {	ohne HCN	1.1	1.8	2.2	2.5	2.7	2.9
	$m/_{100}$ -HCN	0.7	1.1	1.5	1.8	2.2	2.5

Auch die Phenolase aus Kirsche, Rettich und (grüner) Erbsen scheint in gleicher Weise sauerstoffempfindlich zu sein.

Ansätze mit frischem Brei wie beim Apfel. $T = 20^{\circ}$. Siehe dazu auch Figur 4.

Zeit (Min.) ...	5	10	15
Kirsche	1.3	2.1	2.5
Rettich	3.4	5.2	6.3
Erbse.....	4.2	5.5	6.7

Über die Aldehydrase der Kartoffel.

Bach³⁾ hat zuerst festgestellt, daß bei Gegenwart von Aldehyden Nitrat durch ein Enzym der Kartoffel zu Nitrit reduziert wird. Das Nitrat dient hier als Wasserstoff-Acceptor bei der Überführung von Aldehyd (hydrat) zu Säure. Nach Bach haben sich noch Smorodinzew⁴⁾, Michlin⁵⁾ und Bernheim⁶⁾ mit dieser Enzym-Wirkung beschäftigt, die der Geschwindigkeit des Umsatzes gemäß als schwach bezeichnet werden kann.

Wir wollten sehen, ob man es bei der von uns studierten enzymatischen Phenol-Dehydrierung mit der Wirkung des gleichen Aktivators wie bei der Nitrat-Reduktion zu tun hat. Da an eine Trennung des Ferments vorerst nicht gedacht wurde, schien auf einfache Weise die Beantwortung dieser Frage möglich zu sein, wenn man das Verhältnis der beiden Enzym-Wirkungen in der Schale und im Fleisch der Knolle verglich. Die Schale hat sich in ihrer Leistung gegenüber Sauerstoff-Hydrochinon um das 4-fache wirksamer gezeigt als das Innere. Ergab sich das gleiche Verhältnis für die Wirkung gegenüber Nitrat-Aldehyd, so war dies als ein gewisses Anzeichen für die Identität zu betrachten, fand man aber eine wesentliche Änderung, so sprach dies für die Verschiedenheit der beiden, in ihrer chemischen Wirkung untersuchten Enzyme.

Man verglich also die Geschwindigkeit der Nitrat-Reduktion in Schale und Fleisch, und zwar wie bei der Dehydrierung von Hydrochinon mit den gleichen Mengen der Preßsäfte.

3 ccm Preßsaft + 2 ccm $m/16$ -Phosphat-Puffer $p_H = 5.9$ + 1 ccm 5-proz. Ammoniumnitrat-Lösung wurden in Thunberg-Röhren im Thermostaten bei 37° unter Stickstoff gesetzt, dann wurde 1 ccm 5-proz. Acetaldehyd-Lösung zugegeben. Nach 60 Min. wurden 3 ccm entnommen, mit 5 ccm 1-proz. Bleiacetat-Lösung Eiweißstoffe ausgefällt (nach Bach) und im Meßkolben auf 100 ccm aufgefüllt. Die Lösung wird filtriert, mit 2 ccm Lunge-Ilosvayschem Reagens versetzt und 3 Min. in kochendes Wasser gebracht. Zum colorimetrischen Vergleich dienten 5 ccm einer Lösung, die 0.0012 mg NO_2' im ccm enthielt.

Die Auswertung wurde im Duboscq-Colorimeter vorgenommen. Die Versuche sind mit verschiedenen Säften ausgeführt. Die Zahlen geben die Menge NO_2' in mg an, die von 1 ccm Preßsaft in 60 Min. gebildet wurden.

Der zur Anwendung gelangende Saft enthielt 0.004 mg NO_2' im ccm; dieser Wert ist jeweils abgezogen.

Schale	0.037	0.016	0.013	0.019	0.017
Inneres	0.027	0.014	0.018	0.015	0.016 0.016

Wie man sieht, ist die Verteilung der Enzym-Wirkung, die der Reduktion von Nitrat angehört, in Schale und Knolle eine ganz andere als die der Phenolase. Beide Teile der Kartoffel wirken hier ungefähr gleich, und man wird aus dieser Tatsache wohl den Schluß ziehen dürfen, daß es sich um zwei verschiedene Fermente handelt.

³⁾ Biochem. Ztschr. 52, 412, [1913].

⁵⁾ Biochem. Ztschr. 203, 329 [1928].

⁴⁾ Ztschr. physiol. Chem. 123, 130 [1922].

⁶⁾ Biochem. Journ. 22, 344 [1928].

Will man die Wirkungs-Intensität der beiden Fermente roh vergleichen, so erweist sich im Preßsaft der Schale die Phenolase (bei 20⁰) als 300-mal leistungsfähiger als die Aldehydrase (bei 37⁰).

II.

Dieser Abschnitt handelt von der Untersuchung der Meerrettich-Peroxydase in ihrer aktivierenden Wirkung gegenüber verschiedenen organischen Derivaten des Hydroperoxyds. Man findet vielfach in der Literatur des Gebietes unklare Angaben über Peroxyde, die intermediär im Zellstoffwechsel auftreten und von besonderen Fermenten zur Oxydationsleistung herangezogen werden sollen. Um für ein in seiner Wirkung wohldefiniertes Enzym den Umkreis seiner Aktivierungs-Fähigkeit sicher kennen zu lernen, stellten wir nach den Angaben von Willstätter und Stoll⁷⁾ sehr wirksame Peroxydase aus Meerrettichwurzeln her und prüften, ob unter ihrer Mitwirkung in gleicher Weise wie durch Wasserstoffsperoxyd auch durch Äthyl-hydroperoxyd, $\text{H}_3\text{C}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{O}\cdot\text{OH}$, Diäthylperoxyd, $\text{H}_3\text{C}_2\cdot\text{O}\cdot\text{O}\cdot\text{C}_2\text{H}_5$, Di-oxymethyl-peroxyd, $\text{HO}\cdot\text{H}_2\text{C}\cdot\text{O}\cdot\text{O}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{OH}$, Aceto-persäure, $\text{H}_3\text{C}\cdot\text{OC}\cdot\text{O}\cdot\text{OH}$, Di-succinyl-peroxyd, $\text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{OC}\cdot\text{O}\cdot\text{O}\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$, Pyrogallol zu Purpurogallin oxydiert werde.

Das Peroxydase-Präparat hatte die Purpurogallin-Zahl (P.-Z.) 280.

Äthyl-hydroperoxyd: Darstellung nach Baeyer und Villiger⁸⁾; die Äthylierung mit Diäthylsulfat wurde unter Turbinieren vorgenommen. Das Produkt gab nach mehrfachem Destillieren (Sdp.₁₀₀ 45–49⁰) keine Reaktion mit Titan-schwefelsäure, war also vollkommen frei von H_2O_2 .

Für die Versuche mit Peroxydase wurde eine Lösung verwendet, die der von Hydroperoxyd, wie sie für die Aktivitäts-Bestimmung des Ferments nach Willstätter und Stoll dient, äquivalent war (statt 50 mg H_2O_2 , jeweils 91 mg $\text{H}_3\text{C}_2\cdot\text{O}\cdot\text{O}\cdot\text{H}$). Die Gehalts-Bestimmung geschah jodometrisch.

P.-Z. für Hydroperoxyd	268	278	280
„ Äthyl-hydroperoxyd ..	47	54	45

Unter gleichen Bedingungen erreicht demnach Äthyl-hydroperoxyd unter der Wirkung des Ferments nur $\frac{1}{6}$ der Wirksamkeit von Hydroperoxyd selbst.

Blausäure hemmt im gleich hohen Maße, wie dies beim H_2O_2 gefunden war. Dessen Werte sind zum Vergleich in der Tabelle aufgeführt.

HCN-Konz.	0	$m/_{200000}$	$m/_{100000}$
$\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{H}$, P.-Z. . .	49	19	10
Hemmung in % . . .	—	60	80
H_2O_2 , P.-Z.	280	130	66
Hemmung in % . . .	—	55	75

Zur Bestimmung der Peroxydase der Milch hat bereits Grimmer⁹⁾ Äthyl-hydroperoxyd an Stelle von H_2O_2 vorgeschlagen.

Aceto-persäure: Die reine Substanz¹⁰⁾ wurde in einer Konzentration zur Prüfung verwendet, die der von H_2O_2 äquivalent war. Die geringe

⁷⁾ A. 416, 21 [1918], 422, 47 [1921], 430, 269 [1923].

⁸⁾ B. 34, 738 [1901].

⁹⁾ Milchw. Zbl. 44, 246 [1915].

¹⁰⁾ Dargestellt nach d'Ans u. Kneip, B. 48, 1141 [1915].

Wirkung, die festgestellt wurde, die sich aber von der des enzym-freien Kontrollversuchs scharf abhob, ist verlässlich, so daß kein Zweifel besteht, daß Aceto-persäure grundsätzlich von Peroxydase aktiviert wird. Es wurde gleichzeitig die p_H -Abhängigkeit der Reaktion geprüft.

	Acetopersäure					Hydroperoxyd			
p_H	6.6	6.4	5.8	5.0		6.4	6.2	5.9	5.6
P.-Z.	8.5	9.5	11	13	21	225	217	212	202

Die Aktivität steigt von p_H 6.6 zu 5.0 mit zunehmender Acidität auf mehr als das Doppelte, erreicht aber auch so kaum 10% von der des Hydroperoxyds. Zum Vergleich zeigen wir auf der rechten Seite der Tabelle die Abhängigkeit der H_2O_2 -Reaktion von p_H und finden den Einfluß von entgegengesetzter Art.

Wir glauben nicht, daß die Wirksamkeit von Aceto-persäure auf die primäre hydrolytische Abspaltung von Hydroperoxyd zurückzuführen ist, da in Kontrollversuchen innerhalb der Versuchszeit eine solche Spaltung nicht nachzuweisen war.

Diäthylperoxyd: Zur Verwendung kam ein vollkommen reines, von Äthyl-hydroperoxyd und Hydroperoxyd freies Präparat; Sdp. 60—64°. Nach mehreren negativen Vorversuchen wurde mit einem Peroxydase-Präparat der P.-Z. 275 in der üblichen Weise mit 132 mg Diäthylperoxyd eine Wirksamkeits-Prüfung ausgeführt (doppelter Ansatz). Nach 5 Min. war keine wahrnehmbare Verfärbung in den Lösungen aufgetreten. Fügt man aber jetzt je 50 mg H_2O_2 zu, so wurde die volle Farbstärke des normalen Versuchs erreicht. Die Purpurogallin-Zahl wurde zu 288 und 263 (statt 275) festgestellt. Versuche mit einem viel schwächeren Ferment-Präparat (P.-Z. 16) hatten das gleiche Ergebnis.

Daraus geht hervor, daß Diäthylperoxyd durch Peroxydase nicht aktiviert wird, und daß nicht etwa Inaktivierung des Enzyms durch diesen Stoff die Ursache dafür bildet.

Di-oxy-methyl-peroxyd: Dargestellt nach Wieland und Winger¹¹⁾. Der übliche Ansatz mit der dem Hydroperoxyd äquivalenten Menge von 0.138 g ließ auch bei Anwendung von 0.4 mg des Peroxydase-Präparats keine nachweisbare Menge Purpurogallin entstehen. Aber in diesem Falle konnte auch durch nachträgliche Zugabe von Hydroperoxyd die Reaktion nicht mehr in Gang gebracht werden. In einem Ansatz wurde nach H_2O_2 -Zusatz P.-Z. = 8.3 gefunden.

Di-oxy-methyl-peroxyd hemmt demnach sehr nachhaltig die normale Peroxydase-Reaktion mit H_2O_2 .

Di-succinyl-peroxyd: Die Wirkung ist die gleiche wie bei dem voranstehenden Peroxyd: Es tritt keine nachweisbare Aktivierung durch das Enzym ein, und nachträglicher Zusatz von Hydroperoxyd findet kein aktives System mehr vor.

¹¹⁾ A. 481, 306 [1923]. Wir möchten für die Darstellung dieses Präparates Vorsicht anempfehlen. In einem Fall kam es im hiesigen Laboratorium zu einer heftigen Explosion, als der Darsteller versuchte, das ölige Rohprodukt durch Reiben mit einem Glasstab zur Krystallisation zu bringen. Von der Darstellung größerer Mengen (>2—3 g) in einer Operation ist dringend abzuraten.

Auf Grund der mitgeteilten Ergebnisse scheint die Aktivierbarkeit von Peroxyden das Vorhandensein von mindestens einer OH-Gruppe vorauszusetzen. Disubstituierte Peroxyde sind vollkommen unwirksam. Da die monosubstituierten, die untersucht sind, hinter dem Hydroperoxyd selbst stark zurückstehen, gewinnt man den Eindruck, daß sie biologisch kaum eine Rolle spielen, und daß die ganze Diskussion über Peroxyde in diesem Zusammenhang sich wahrscheinlich auf die Grundsubstanz selbst zu beschränken haben wird.

6. A. D. Petrow: Über die Umwandlung der Fettsäuren in Kohlenwasserstoffe unter hohem Druck (Zur Frage der Bildung des Erdöls vom Naphthen-Typus).

[Aus d. Chem. Institut d. Akad. d. Wissenschaften in Leningrad.]
(Eingegangen am 18. Juni 1929.)

Der Weg, der zur Bildung von Naphthenen aus Fettsäuren auf Kosten der vorübergehend, durch Cracken der letzteren, entstehenden ungesättigten Kohlenwasserstoffe führt, wurde zuerst von Kraemer diskutiert, der auch auf die Notwendigkeit hohen Druckes zur Bildung des Erdöls vom Naphthen-Typus hingewiesen hat. Später wurden von Engler und seinen Mitarbeitern¹⁾ Naphthene auch experimentell aus Olefinen hergestellt. In diesen letzten Arbeiten gab Engler sozusagen eine Korrektur der Einwirkung hohen Druckes auf die primären Produkte des Säure-Crackens (Proto-petroleum), die er früher²⁾, bekanntlich in der Kreyschen Apparatur, bei verhältnismäßig niedrigem Druck von nur 15 Atm. erhalten hatte. Die Drucke, die Engler nun, in den oben zitierten Arbeiten anwandte, erreichten bereits 120 Atm., d. h. es waren Drucke von derselben Ordnung wie die, denen das Erdöl in der Natur ausgesetzt ist. Da außerdem die Zersetzung der Fettsäuren von vielen Autoren auch unter Atmosphären-Druck ausgeführt und untersucht worden ist, so wurden einige von ihnen durch die auch in diesem Fall stattfindende Bildung eines erdöl-artigen Produktes veranlaßt, die Bedeutung des hohen Druckes zu unterschätzen. So beobachtete Künkler³⁾, als er Olein- und Stearinsäure unter Atmosphären-Druck auf Temperaturen etwas unterhalb ihrer Siedepunkte erhitzte, die Entstehung eines erdöl-ähnlichen Produktes, das auch einen gewissen Prozentsatz Ketone enthielt. Auf Grund dieser Versuche kam Künkler zu der Schlußfolgerung, daß die Ketone bei der Entstehung der Erdöl-Kohlenwasserstoffe eine Übergangsstufe bilden, sowie daß der Druck erst eine Folge der Erdöl-Bildung darstellt und nicht dieselbe begünstigt.

Diese Arbeiten forderten eine Entgegnung Englers⁴⁾ heraus, der nachwies, daß der hohe Druck eine ganz andere Art der Zersetzung der organischen Verbindungen bedingt, wie dies auch von W. Ipatiew an einer Reihe von Verbindungen gezeigt wurde, und auch daß die Temperatur,

¹⁾ Engler und Routala, B. 42, 4620 [1909]; Engler und Halmai, B. 43, 397 [1910].

²⁾ Engler und Lehmann, B. 30, 2367 [1897].

³⁾ C. 1908, I 1322, 1909, I 871, 1910, I 2031.

⁴⁾ Engler und Severin, Ztschr. angew. Chem. 25, 153 [1912].