

anzuwenden wäre, an der Rohrzucker-Inversion zu prüfen. Wir behalten uns vor, ausführlicheres Versuchsmaterial zu beschaffen. Doch dürfte schon jetzt eine Inhibition der Rohrzucker-Inversion durch Mangan(II)- und Kobalt(II)-Ion als festgestellt gelten.

Ein Teil der Messungen ist von Herrn Dipl.-Kand. *E. Rey* ausgeführt worden.

Zürich, Physik.-chem. Laboratorium der
Eidg. Techn. Hochschule. März 1938.

55. Über Inhibition bei der Peroxydase-Wirkung auf Guajakharz

von Emil Baur.

(22. III. 38)

Das bequemste Mittel, um Peroxydasen zu kennzeichnen und zu bewerten, ist die Blaufärbung, die eintritt, wenn Gujaktinktur mit Hydroperoxyd und Peroxydase versetzt wird. Unter gegebenen Verhältnissen ist die Geschwindigkeit der Bläuung und deren Tiefe ein Mass für die Wirksamkeit der zu prüfenden Peroxydase¹⁾. Nach einiger Zeit geht die Bläuung wieder zurück, so dass der zeitliche Verlauf derselben durch eine Kurve mit einem Maximum dargestellt wird.

Die reaktionskinetische Analyse dieser Kurve bietet manches Interesse und ist auch kolorimetrisch leicht durchzuführen, wenn man in wässrig-alkoholischer Lösung arbeitet, in der die Reaktion homogen vor sich geht. Namentlich konnte man vermuten, dass die Gujakbläuung ein vorteilhaftes Objekt zur Untersuchung inhibitorischer Effekte sein würde.

In der Untersuchung von *G. Senter*²⁾ über die Katalase des Blutes („Hämase“ genannt) wurden eine Reihe von Hemmstoffen genannt, die schon in kleinsten Mengen die Fermentwirkung beeinträchtigen. Es finden sich darunter gerade dieselben Redox-Mittel, die, wie wir heute wissen, auf die verschiedensten Reaktionen nach gemeinsamen, bestimmten Gesetzen sowohl inhibitorisch, als auch desensibilierend³⁾ und fluoreszenzhemmend einwirken⁴⁾. Hemmung der Leberkatalase durch Hydrochinon und Resorcin in Übereinstimmung mit der *Baur-Ouellet-Formel* beschrieb *G. M. Schwab*⁵⁾.

¹⁾ *P. Waentig*, die Peroxydase-Reaktion der Milch, Arb. Reichsgesundh. **26**, 464 (1907). Über einen Vorlesungsversuch mit Milchperoxydase vgl. *E. Baur*, Themen der physik. Chem., *Akad. Verlagsges.*, Leipzig 1910, S. 70.

²⁾ *Z. physikal. Ch.* **44**, 257 (1903). Ebenda, **51**, 673 (1905).

³⁾ Vgl. Fussnote 5, S. 438.

⁴⁾ *C. Ouellet*, *Helv.* **14**, 936 (1931); *E. Baur*, *Z. physikal. Ch. [B]* **16**, 465 (1932); *E. Baur* und *H. Preis*, *Z. physikal. Ch. [B]* **32**, 65 (1936).

⁵⁾ *B.* **66**, 661 (1933).

Es war wohl zu vermuten, dass sich gleiche Effekte bei der Gujakbläuung durch Peroxydase einstellen würden.

Die Erwartung wurde erfüllt. Die folgenden Kurvenbilder sollen die Erscheinungen, die hier auftreten, vor Augen führen.

Zuvor ein Wort über die mathematische Form der Bläuungskurve. Nehmen wir Gujakharz in sehr grossem Überschuss gegen Hydroperoxyd und setzen wir die Fermentkonzentration konstant, so wird sowohl die Bläuung wie die Entbläuung nach der ersten Ordnung anzusetzen sein:

$$-\frac{d(\text{H}_2\text{O}_2)}{dt} = +\frac{d(\text{Blau})}{dt} = \lambda_1 \cdot (\text{H}_2\text{O}_2)$$

$$-\frac{d(\text{Blau})}{dt} = \lambda_2 \cdot (\text{Blau})$$

Das Problem, den zeitlichen Verlauf der Bläuung darzustellen, ist unter diesen Umständen gleich einem in der Lehre der radioaktiven Umwandlungen auftretenden und dort auch gelösten. Man erhält für die Zeit des Maximums der Bläuung die Formel¹⁾:

$$T_{\text{max.}} = \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \log \text{nat} \frac{\lambda_1}{\lambda_2}$$

Man wird bemerken, dass der Eintritt des Maximums sowohl vom Verhältnis, als auch von der absoluten Grösse von λ_1 und λ_2 abhängt; im allgemeinen rückt das Maximum nach kürzeren Zeiten für grösseres λ_1 . Für festgehaltenes λ_2 wird das Bläuungsmaximum um so stärker, je grösser λ_1 ist.

Versuchsanordnung. Es wird mit Peroxydase aus weissen Rüben gearbeitet. Wegen deren Bereitung vergleiche die vorhergehende Abhandlung über Percarbonat. Die — schwach trübe — Ausgangslösung des Fermentes enthält 200 mg Ferment auf 1 Liter Wasser. Das System besteht aus: 50 cm³ Alkohol + 5 cm³ 2-proz. alkoholische Gujakharzlösung + 20 cm³ wässrige Fermentlösung + 1 cm³ 0,2-proz. H₂O₂ + 5 cm³ Wasser oder Inhibitorlösung. — Das Ferment wird zuletzt zugegeben. Der Ablauf der Bläuung zählt von diesem Zeitpunkt. Raumtemperatur. Gemessen wird im Eintauchkolorimeter gegen eine blaue Farbe, die dem Gujakblau möglichst angeglichen wurde, von der Zusammensetzung: 30 mg Siriusblau, 14 mg Methylgrün, 5 mg Methylenblau, 6 mg Chrysoidin auf den Liter.

Die Methode ist ungenau, da sie weder einer gewissen Trübung der Reaktionslösung noch der am Anfang und am Ende der Umsetzung vorherrschenden braunen Farbe der Reaktionslösung, die allerdings rasch über graugrün nach blau fortschreitet, Rechnung trägt. Die so gewonnene Bläuungskurve, die also namentlich am Anfang und gegen Ende verzerrt ist, mag jedoch zu einem Überblick genügen. Zur Auswertung der Konstanten λ_1 und λ_2 und zur quantitativen Untersuchung des Ganges beider Grössen mit der Inhibitor-Konzentration reicht die Methode nicht aus. Hiezu gehört spektralphotometrische Bestimmung, die wohl keinen Hindernissen begegnen wird und die wir später beizubringen gedenken.

Die folgenden drei Figuren enthalten eine Auswahl charakteristischer Bläuungskurven, denen wir entnehmen, dass verschiedene Typen vorkommen.

¹⁾ Stefan Meyer und Egon Schweidler, Radioaktivität, 2. Aufl. Leipzig, Teubner, 1927, S. 55.

Erörterung. Die mit „Null“ bezeichnete Kurve der drei Figuren gehört dem inhibitorfreien Versuch.

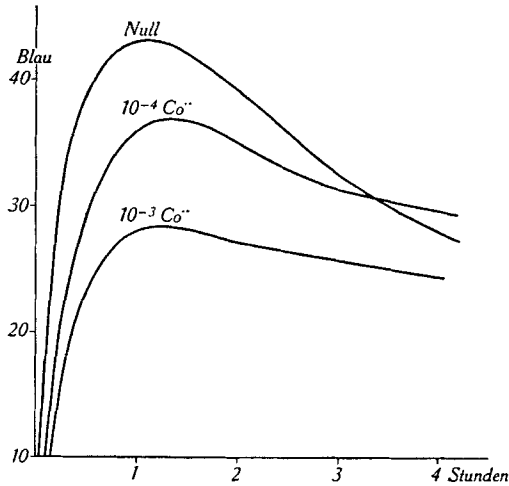


Fig. 1.

Auf Fig. 1 sehen wir, dass Kobalt(II)-ion (als Sulfat zugesetzt) energisch hemmt und zwar sowohl die Bläuung wie die Entbläuung. Grundsätzlich dasselbe Verhalten finden wir mit Mangan(II)-sulfat und mit Hydrochinon. Letzteres ist noch um mindestens eine Größenordnung empfindlicher, namentlich bezüglich der Bremsung der Abklingung.

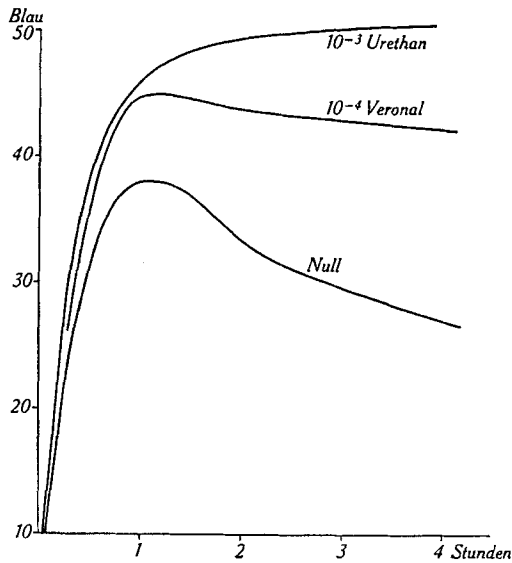


Fig. 2.

Fig. 2 zeigt die Wirkung der Schlafmittel Veronal (= Diäthylbarbitursäure) und Urethan (= Carbaminsäure-äthylester). Sie bremsen nur die Entbläuung; Urethan in der Konzentration eines Millimols so stark, dass es zu keinem Maximum mehr kommt, d. h. zu keiner Entbläuung. Grundsätzlich ebenso verhält sich Phenylalanin.

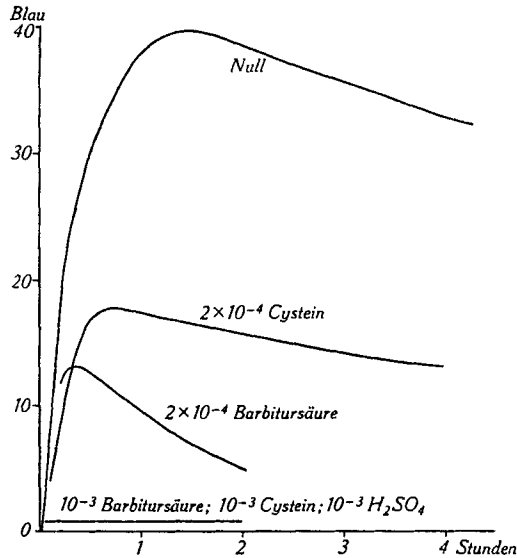


Fig. 3.

Fig. 3 zeigt die Wirkung von Cystein (als Hydrochlorid) und von Barbitursäure (= Malonyl-harnstoff). Sie hemmen die Bläuung, zu erkennen an der starken Erniedrigung des Gipfels der Kurve. Die Kurve für Barbitursäure scheint erheblich verzerrt wegen der schwachen Ausbildung der Bläuung. Am Grunde der Figur ist angedeutet, dass man sowohl mit Barbitursäure, als auch mit Cystein die Bläuung schon in der Konzentration von einem Millimol gänzlich unterdrücken kann; d. h. λ_1 wird kleiner als λ_2 .

Von besonderem Interesse dürfte sein, dass zu den Inhibitoren der Bläuung auch Wasserstoffion gehört. Wirkung von Schwefelsäure quantitativ etwa wie Cystein. Acidität als fermenthemmender Faktor ist eine weit verbreitete Erscheinung, deren Erklärung zweifelhaft ist. Sie lässt sich in gewissen Fällen auf Absorptionsverdrängung zurückführen¹⁾; in anderen Fällen vermochte man sie formal mit einem hypostasierten amphoteren Charakter des Fermentes zu erklären²⁾. Es wäre von höchstem Interesse, wenn sich des Genauerem

¹⁾ E. Baur und K. Wunderly, p_H -Abhängigkeit der Adsorption und der Aminolyse. Bioch. Z. **272**, 1 (1934).

²⁾ L. Michaelis, Z. physiol. Ch. **152**, 183 (1926). Vgl. auch W. Langenbeck, Zur Theorie der Enzymkinetik. Z. angew. Ch. **46**, 29 (1933).

nachweisen liesse, dass Wasserstoffion ausser seinen katalytischen auch antikatalytische Funktionen besitzt, wie wir dies z. B. von Mangan- und Eisensalzen wissen¹⁾.

Es muss auffallen, dass Reaktionen in wässriger Lösung oft zu langsam gehen, beurteilt nach Stosszahl und Aktivierungswärme²⁾. Es wäre wohl möglich, dass dies gerade herrührt von der Inhibition des Wasserstoffions. Was hier über die antikatalytische Wirkung des Wasserstoffions auf Peroxydase beobachtet wurde, deutet in die gleiche Richtung.

Die kolorimetrischen Messungen sind von Herrn Dipl.-Kand. *A. Marzer* ausgeführt worden.

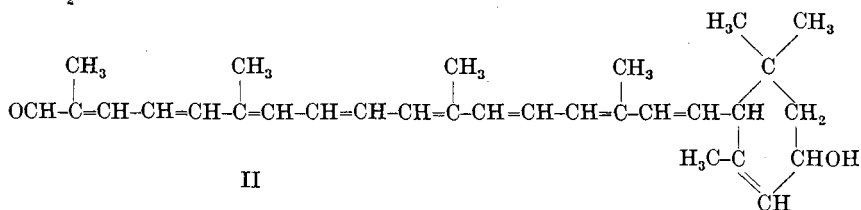
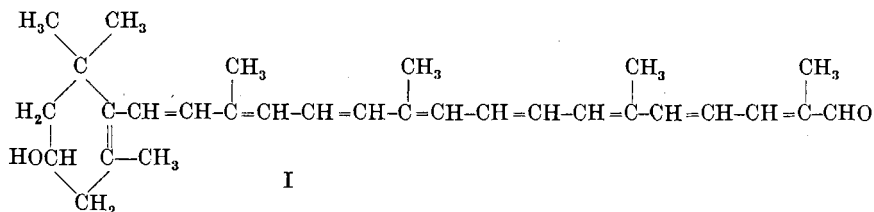
Zürich, Physik.-chem. Laboratorium der
Eidg. Techn. Hochschule. März 1938.

56. α -Citraurin, ein Abbauprodukt des Xanthophylls

von *P. Karrer*, *H. Koenig* und *U. Solmssen*.

(25. III. 38.)

Das unsymmetrisch gebaute Xanthophyll könnte beim partiellen Abbau mit Kaliumpermanganat entweder Citraurin (I)³⁾ oder die isomere Verbindung II liefern, je nachdem ob die Oxydation am einen oder anderen Ende der Molekel einsetzt.



¹⁾ *E. Baur* und *H. Preis*, Oxydationshemmung von Cystein und Ascorbinsäure. *Z. physikal. Ch.* [B] **32**, 65 (1936).

²⁾ *Moelwyn-Hughes*, *Kinetics*. Oxford, *Clarendon Press* 1933, Tabellen S. 111, 218, 245.

³⁾ Isolierung aus Orangen: *Zechmeister*, *Tuzson*, *B.* **69**, 1878 (1936). Konstitution: *P. Karrer*, *U. Solmssen*, *Helv.* **20**, 682, 1020 (1937); *Zechmeister*, *Cholnoky*, *A.* **530**, 291 (1937).