

99. Inhibitoren der Katalase und Tyrosinase

von Emil Baur.

(12. IV. 39.)

Die Antikatalyse beansprucht in der Chemie vielleicht ebensoviel Raum wie die Katalyse. Insbesondere bedarf der Organismus zur Regelung des Stoffwechsels gleicherweise der Hemmungen wie der Antriebe. Gerade die Tätigkeit der Fermente muss nach Bedarf auch gestoppt werden können. Besonders auffällige Blockierungen gewisser Fermentationen sind längst bemerkt und als deren Vergiftung angesehen worden. Wir wollen zeigen, dass antikatalytische Wirkungen allgemein von Redoxmitteln auf Fermente ausgeübt werden können. Unter Redoxmitteln sind Stoffe zu verstehen, die leicht in eine höhere oder niedrigere Oxydationsstufe übergehen können und daher ein mehr oder weniger gut sich einstellendes Redoxpotential haben. In den Arbeiten von *J. Deutsch*¹⁾, *H. Preis*²⁾, *M. Obrecht*³⁾ sind viele Redoxmittel, die sehr verschiedenen Stoffklassen angehören, auf ihr übereinstimmendes Verhalten als Inhibitoren der Verküpfung und der Oxydation von Cystein, Ascorbinsäure, Adrenalin geprüft worden. Es schien geboten, den dort befolgten Gang der Untersuchung zu übertragen auf passend auszuwählende Fermentationen. Wir wählten die Zerlegung des Hydroperoxyds durch Katalase und die Oxydation von Tyrosin mit Sauerstoff durch Tyrosinase. Ziel der Untersuchung ist der Vergleich der Stärke der antikatalytischen Wirkungen je nach Reaktion und Inhibitor. Als Mass der Wirkung dient dessen Halbwert-Konzentration, nämlich diejenige, welche die Anfangsgeschwindigkeit auf die Hälfte herabsetzt. Sie ist gleich $1/\beta$, wenn der Konzentrationsgang der Hemmung dem Desensibilisierungs-

$$v = \frac{1}{0,01 + \beta(D)}$$

Gesetz von *Baur-Ouellet* gehorcht, wo v die gehemmte R. G. in Prozenten der ungehemmten und (D) die Konzentration des Inhibitors = Antikatalyten = Desensibilisators bedeutet. Wegen des Sinnes der Hemmungsformel vergleiche die vorgenannten Literaturstellen und das Buch von *K. Weber*, Inhibitorwirkungen⁴⁾.

¹⁾ *J. Deutsch*, Über Inhibitoren bei der Verküpfung, Diss. Zürich, E.T.H. Nr. 756 (1933). — *E. Baur*, Z. physikal. Ch. [B] **22**, 231 (1933).

²⁾ *H. Preis*, Über Oxydationshemmung von Cystein und Ascorbinsäure, Diss., Zürich, E.T.H. (1936). — *E. Baur* und *H. Preis*, Z. physikal. Ch. [B] **32**, 65 (1936).

³⁾ *M. Obrecht*, Über die Oxydation des Adrenalins. Diss. Zürich, E.T.H. (1939). — *E. Baur* und *M. Obrecht*, Z. physikal. Ch. [B] **41**, 167 (1938).

⁴⁾ Stuttgart, *Enke*, 1938.

1. Katalase.

Dass die katalatische Hydroperoxyd-Zersetzung verschiedentlich durch Zusätze schon in kleinster Menge gehemmt werden kann, ist mehrfach bemerkt worden. *G. Senter*¹⁾ nennt als Verzögerer von mässiger Wirkung (auf Blutkatalase) die Halogenionen und Wasserstoffion, als Verzögerer von starker Wirkung Schwefelwasserstoff, Jod, Quecksilber(II)-chlorid, Kaliumcyanid. Letzteres soll die Geschwindigkeit auf die Hälfte herabsetzen in der Konzentration von 10^{-6} Mol/L. *G. M. Schwab*²⁾ prüfte quantitativ die Hemmung durch Hydrochinon und Resorcin (auf Pferdeleber-Katalase) und fand Halbierung der Geschwindigkeit durch diese Inhibitoren bei etwa 4×10^{-5} Mol/L.

Unsere Messungen sind in Tabelle 1 und Tabelle 2 niedergelegt. Tabelle 1 unterrichtet über anorganische, Tabelle 2 über organische Inhibitoren. Fig. 1 veranschaulicht am Beispiel des Kaliumcyanids die Kurvenschar, aus der die Werte von v (beob.) in den Tabellen zu bilden sind. v (ber.) wird nach der Formel von *Baur-Ouellet* berechnet, wobei der Koeffizient β mit einem geeignet gewählten v (beob.) ausgewertet oder auch aus allen v (beob.) gemittelt erhalten wird.

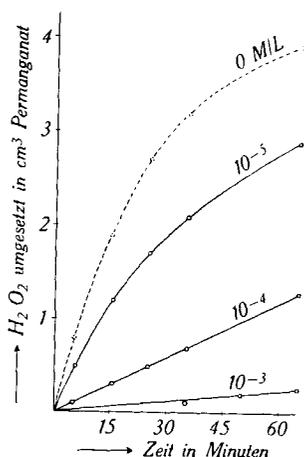


Fig. 1.

Hemmung durch KCN.

Bereitung der Leberkatalase. 1 kg Kalbsleber, von Schnen befreit, zweimal durch Fleischwolf getrieben. Zum Brei 1 Liter Wasser. Wird mit der Hand durchgeknetet. Hierauf Brei über Nickeldrahtsieb ablaufen lassen und ausgedrückt. Der Durchlauf ist rot, trüb. Der hellere Rückstand auf dem Sieb nochmals mit 1 Liter Wasser angemacht, durchgeknetet und durch das Sieb getrieben. Die Durchläufe vereinigt und mit dem $2\frac{1}{2}$ -fachen Volum Alkohol versetzt. Es wird ein reichlicher, hellfleischfarbener Niederschlag in leichten Flocken abgeschieden. Anderntags wird von der gelbgrünen Flotte abgehebert und der Absatz auf grosser Nutsche abgesaugt. Mit Alkohol

¹⁾ Z. physikal. Ch **51**, 673 (1905).

²⁾ *G. M. Schwab* und Mitarbeiter, B. **66**, 661 (1933).

Tabelle 1.
Messungen von R. Allmann und E. Friedländer.

Substrat		2,0 × 10 ⁻³ Mole/Liter H ₂ O ₂ ; 0,1 g/Liter Leberkatalase						
Inhibitor	Mole/Liter	H ₂ SO ₄ β = 150		CN ⁻ (KCN) β = 600	Pb ⁺⁺ (Pb[NO ₃] ₂) β = 50		Ag ⁺ (AgNO ₃) β = 12	Hg ⁺⁺ (HgCl ₂) gepuffert auf P _H = 7 β = 240
		beob.	ber.		beob.	ber.		
	10 ⁻⁵	90	87	62	92	95	96	78
	10 ⁻⁴	40	40	13	67	67	82	33
	10 ⁻³	10	6,3	1,8	14	17	74(?)	4
	10 ⁻²				9		9	
	Halbwertkonzentration Mole/Liter		6,7 × 10 ⁻⁵	1,7 × 10 ⁻⁵		2 × 10 ⁻⁴	8,3 × 10 ⁻⁴	4 × 10 ⁻⁵

Tabelle 2.
Messungen von A. Alther.

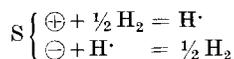
Substrat		2,8 × 10 ⁻³ Mole/L H ₂ O ₂ ; 0,06 g/L Leberkatalase; gepuffert auf P _H = 7.													
Inhibitor	Mole/L	Phenol β = 360		Metol β = 360		Hydrochinon β = 45		Cystein β = 36		Thiomilchsäure β = 25		Barbitursäure β = 25		Ascorbinsäure β = 145	
		beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.
	10 ⁻⁶	94	96	82	96										
	10 ⁻⁵	72	72	72	72	90	95	91	96						
	10 ⁻⁴	30	22	19	22	69	69	72	72	81	80	80	80	41	41
	10 ⁻³							13	22	21	29	37	29	16	6,5
	Halbwertkonzentration Mole/L		3 × 10 ⁻⁵		3 × 10 ⁻⁵		2 × 10 ⁻⁴		3 × 10 ⁻⁴		4 × 10 ⁻⁴		4 × 10 ⁻⁴		7 × 10 ⁻⁵

nachgewaschen. Der dicke, käsige Satz von der Nutsche abgehoben und zunächst im luftleeren Exsikkator über Schwefelsäure angetrocknet. Hierauf die Masse zwischen den Fingern zerkrümelt und auf einem Blech über der Heizung getrocknet, in der Porzellankugelmühle gemahlen und das Feine abgeseibt. Hellbraunes, völlig haltbares Pulver.

Ausführung. Abgewogene Menge des Fermentpulvers wird unter dem Pistill mit wenig Wasser verrieben, dann verdünnt. Wasser doppelt destilliert zur Befreiung von Metallspuren (Kupfer). Für jede Versuchsreihe mit gleichem Inhibitor werden aus derselben, frisch bereiteten Fermentlösung den Substraten gleiche Mengen zugesetzt. Verlauf bei Raumtemperatur, 20°. Thermostat war entbehrlich. Nach passenden Zeiten werden dem Versuchsansatz je 10 cm³ entnommen, in verdünnte Schwefelsäure auslaufen gelassen (macht Bremsung der Reaktion) und mit 0,01-n. Permanganat titriert. Das Wirkungsoptimum liegt bei p_H = 7. Wo angezeigt, wird diese Neutralität durch Phosphatpuffer (mit 0,067-n. Na₂HPO₄ und 0,067-n. KH₂PO₄) festgehalten. In den Tabellen ist angegeben, wo gepuffert worden ist.

In den Versuchen von Tabelle 1 haben wir inhibitorfrei etwa 25 % Umsatz in 5 Minuten, in denjenigen von Tabelle 2 denselben Umsatz in 2 Minuten (Einfluss des Puffers und höherer H₂O₂-Konzentration). In Tabelle 2 macht sich bei den höheren Inhibitor-Konzentrationen (ab 10⁻⁴) ein Permanganat-Verbrauch durch den organischen Inhibitor, manchmal vielleicht auch Zerstörung desselben während des Ablaufs, störend bemerkbar. — Die inhibitorfreie Reaktionskurve gehorcht dem Gesetz der ersten Ordnung.

Bemerkungen. Wichtig ist, dass der Gang der Reaktionsbremsung durch Wasserstoffion derselbe ist, wie mit den anderen Antikatalyten. Wir schliessen daraus, dass die H⁺-Bremsung hauptsächlich übereinkommt mit der Wirkung der anderen Antikatalyte; dass also Zirkularreaktion vorliege von der Form



Das Zeichen



soll den durch Elektronensprung angeregten Zustand der aktiven Molekeln vorstellen. Wenn in dem Buch von *Kenneth C. Bailey*, *The retardation of chemical reactions*¹⁾ auf Seite 383 von jener Zirkularreaktion gesagt wird:

„To explain the stabilisation of hydrogen peroxide by sulphuric acid in the same way would demand a high degree of ingenuity.“

so wäre zu antworten: es bedarf dazu gar keiner Kunst. Verborgene molekulare Wasserelektrolyse geht aus vielen Photolysen²⁾ und am deutlichsten aus dem *Becquerel*-Effekt hervor, wo sie direkt gemessen wird³⁾.

¹⁾ London, *Arnold*, 1937.

²⁾ Vgl. die Arbeiten von *A. Perret*, *Helv.* **7**, 910 (1924). — *C. Neuweiler*, *Z. wiss. Phot.* **25**, 88 (1928). — *F. Allisson*, *Helv.* **12**, 788 (1930).

³⁾ *E. Baur*, Formeln für die sensibil. Photolyse, *Helv.* **12**, 793 (1929).

Da die Halbwert-Konzentrationen auf Tabelle 1 bei 10^{-5} bis 10^{-4} Mol/L. liegen, so handelt es sich deutlich um solche Spuren-Effekte, welche in der Pharmakologie als „oligodynamische“ Wirkungen bezeichnet werden. Von den Halogenen wirken Bromion schwach (deutlich bei 10^{-2}), Chlorion noch schwächer, Jodion macht Komplikation wegen der Jodion-Katalyse; auch müsste dann gasvolumetrisch gemessen werden. — Von den Schwermetall-Kationen fanden wir Co^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} schwach hemmend (deutlich erst bei 10^{-3} bis 10^{-2}); Fe^{3+} (als Eisen(III)-sulfat) zwar stark hemmend, jedoch kompliziert durch p_{H} -Änderung wegen der Hydrolyse des Ferrisalzes. Wird mit Phosphat gepuffert, so ist die Wirkung schwach, wohl wegen Schwerlöslichkeit des Phosphates.

Vergleicht man die Schwermetall-Hemmungen des katalatischen Hydroperoxyd-Zerfalles mit denen der Cystein-Oxydation nach *Preis*¹⁾, so sind sehr grosse Unterschiede zu bemerken. Manche Kationen, die bei *Preis* stark wirken, erscheinen hier schwach; immerhin sie wirken, wogegen die Cystein-Oxydation gegen organische Inhibitoren ganz unempfindlich war. Dies ist hier anders, wie Tabelle 2 lehrt. Es mag daran erinnert werden, dass die Cystein-Oxydation die Hemmung einer Kupfer-Katalyse ist, was hier nicht der Fall ist. Daher die Unterschiede.

Die in Tabelle 2 aufgeführten organischen Inhibitoren verteilen sich auf Phenole, Sulphydyle, Schlafmittel und den Keto-Enol-Körper Ascorbinsäure. Wie schon bemerkt, sind wegen mancherlei Störungsmöglichkeiten die Messungen weniger sicher als für Tabelle 1. Veronal (= Diäthyl-barbitursäure) ist wegen Unregelmässigkeit nicht in Tabelle 2 aufgenommen. Es hemmt mit 10^{-4} ähnlich wie Barbitursäure (= Malonyl-harnstoff). — Die Halbwert-Konzentrationen zeigen mit 10^{-5} bis 10^{-4} starke Hemmung, also „oligodynamische“ Effekte. Phenole erreichen in ihrer Hemmungskraft die stärksten anorganischen Gifte: CN' ; Hg^{2+} . Der Vergleich der anderen Inhibitoren mit deren Wirksamkeiten bei der Adrenalin-Oxydation nach *Obrecht*²⁾ ergibt individuelle Unterschiede; zum Teil stärkere, zum Teil schwächere Inhibition; allein das Bild ist im ganzen durchaus ähnlich.

2. Peroxydase.

Peroxydasen haben auch katalatische Wirkung. Ein von uns bereitetes Ferment-Präparat aus weissen Rüben war jedoch über zehnmal schwächer als unsere Leber-Katalase. Dieser Umstand lässt eine Untersuchung auf Inhibition nur für die stärksten Inhibitoren zu. Bei der Titration tritt ein Eigenverbrauch von Permanganat durch

1) Vgl. Tab. 7. S. 81 in Z. physikal. Ch. [B] **32**, 65 (1936).

2) Vgl. Tab. 1. S. 171 in Z. physikal. Ch. [B] **41**, 167 (1938).

das Ferment störend hinzu. Zur Ermittlung der relativen Geschwindigkeiten durften daher nicht die Anfangsgeschwindigkeiten verwendet werden, sondern spätere im mehr gestreckten Teil der Reaktionskurven, was deren rechnerische Verwertung unsicher macht. Wir beschränken uns auf die Mitteilung, dass mit Kaliumcyanid, Silbernitrat, Quecksilber(II)-cyanid in Substraten, die mit Phosphat auf $p_H = 6$ gepuffert waren, Halbwert-Konzentrationen zwischen $2,5$ und $5,0 \times 10^{-6}$ beobachtet wurden, — um eine Grössenordnung niedriger, als mit Leber-Katalase, die ihrerseits zehnmal aktiver ist. Es scheint, dass das stärkere Ferment entsprechend stärkere Inhibitor-Konzentrationen verlangt, um den prozentisch gleichen Effekt hervorzubringen; eine Bemerkung, die vielleicht nicht unwichtig ist.

3. Tyrosinase.

In vielen pflanzlichen und tierischen Geweben trifft man ein Oxydationsferment an, unter dessen Einfluss Tyrosin (= Oxyphenylalanin) durch den Sauerstoff der Luft über Zwischenprodukte (Dopa) zu roten und schliesslich schwarzen Stoffen (Melanin) oxydiert wird.

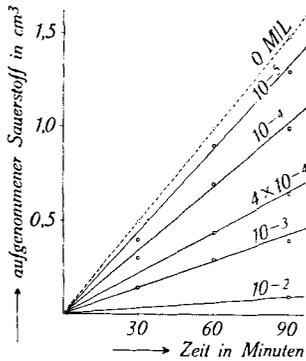


Fig. 2.
Hemmung durch Resorcin.

Insgesamt werden auf dem Wege Tyrosin \rightarrow Melanin $5/2$ O_2 verbraucht¹⁾. Nach *R. Chodat*²⁾ sind Kartoffelschalen ein brauchbares und bequemes Ausgangsmaterial zur Darstellung des Fermentes. Den Fortschritt der Reaktion kann man entweder volumetrisch verfolgen durch Messung der Sauerstoff-Absorption nach *Schaaf*³⁾ oder jodometrisch durch Messung der Abnahme des Tyrosins nach *H. Haehn* und *J. Stern*⁴⁾. Das Wirkungsoptimum liegt nach *H. S. Raper* und *Wormall*⁵⁾ in der Nähe von $p_H = 7$, was wir bestätigt gefunden haben. Es wird angegeben⁶⁾, dass das Ferment gehemmt wird durch Blausäure, Schwefelwasserstoff, Natriumfluorid, Resorcin, aromatische Säuren usw. Diese und andere Hemmungen der Tyrosinase haben wir in Analogie zu der voraufgehenden Untersuchung der Katalase quantitativ bestimmt. Unsere Messungen sind in Tabelle 3 nieder gelegt. Fig. 2 veranschaulicht am Beispiel des Resorcins die Kurvenschar, aus der die Werte v (beob.) in der Tabelle zu bilden sind. v (ber.) und Halbwert-Konzentrationen wie oben.

¹⁾ *W. I. Dulière* und *Raper*, *Biochem. J.* **24**, 239 (1930).

²⁾ Siehe *Abderhalden*, *Handb. d. biol. Arbeitsmeth.* IV, **1**, 319 (1925).

³⁾ *Dermatol. Z.* **72**, 250 (1935); *Archiv f. Dermatologie* **176**, 646 (1938).

⁴⁾ *Oppenheimer-Pincussen*, *Fermente und ihre Wirkungen*, **3**, 1364 (1939).

⁵⁾ *Biochem. J.* **17**, 454 (1923).

⁶⁾ *H. v. Euler*, *Chemie der Enzyme* II, **3**, 169 (*W. Franke*), München, *Bergmann*, 1934.

Tabelle 3.
Messungen von *T. Hirschi* und *El Ansary*.

Substrat: Phosphatpuffer pH = 7	2.3 × 10 ⁻³ Mole/L Tyrosin; 0.083 g/L Kartoffel-Tyrosinase volumetrische Bestimmung				2.27 × 10 ⁻³ Mole/L Tyrosin; 0.091 g/L Kartoffel-Tyrosinase jodometrische Bestimmung						
	Resorcin β = 30	<i>l</i> -Cystin β = 65	Cystein β = 42	Ketotriox- abietinsäure β = 12	Glyko- koll	Ag ⁺ (AgNO ₃) ungepuffert β = 13	CN ⁻ (KCN) β = 820	S ²⁻ (Na ₂ S) β = 120	F ⁻ (NaF)		
Inhibitor	v		v		v		v		v		
Mole/L	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	beob.	ber.	
1 × 10 ⁻⁶	90	97	90	93	90	96	89	92	88	89	
1 × 10 ⁻⁵											
4 × 10 ⁻⁵											
1 × 10 ⁻⁴	70	77	70	60	80	70	88	11	50	46	
2.5 × 10 ⁻⁴											
4 × 10 ⁻⁴	45	45	50	24	75	48			20	17	
5 × 10 ⁻⁴											
1 × 10 ⁻³	28	25	25		50	19	47		4	7	
4 × 10 ⁻³							16				
1 × 10 ⁻²	1	3			50						
Halbwert- konzentration Mole/L		3.3 × 10 ⁻⁴		1.5 × 10 ⁻⁴		2.3 × 10 ⁻⁴		0.8 × 10 ⁻³		1.2 × 10 ⁻⁵	0.3 × 10 ⁻⁴

Bereitung von Kartoffel-Tyrosinase. 5 kg Kartoffelschalen werden durch den Fleischwolf getrieben und der entstehende Brei sofort in Tüchern ausgepresst. Wir erhielten 2 Liter braunen Saft, den wir sofort mit 6 Liter Alkohol versetzten. Es fallen hellbraune Flocken aus. Nach einstündigem Stehen im Dunkeln wird dekantiert, der Rückstand auf grosse Nutschen verteilt und kurz abgesaugt. Wichtig ist rasches Arbeiten. Mit Alkohol einmal Waschen und den noch feuchten braunen Rückstand auf Tonteller im Vakuum-Exsikkator über Calciumchlorid im Dunkeln trocknen. Man erhält 20 g braunes Pulver; verschlossen und vor Licht geschützt aufzubewahren.

Die Fermentlösung wird folgendermassen hergestellt: 5 g Rohferment in Reibschale mit 200 cm³ Wasser und 10 cm³ Toluol anreiben und vier Stunden stehen lassen. Durch Nutsche filtrieren, wobei 3 g ungelöst zurückblieben. Die Fermentlösung ist für eine Woche unverändert haltbar, wenn sie mit etwas Toluol im Eisschrank vor Licht geschützt aufbewahrt wird. Zu den einzelnen Versuchen wird die nötige Menge dem Vorrat entnommen.

Ausführung.

a) Volumetrisch. Thermostat von 20°. Liegende Schüttelgefässe von 120 cm³ Inhalt. Beschickung mit 60 cm³ Reaktionslösung. Schaukeltisch und Büretten mit Quecksilbersperre wie bei *Preis* und *Obrecht* beschrieben. Füllung mit Sauerstoff. Nach Ingangsetzung der Schaukel wird zur O₂-Sättigung 10 Minuten gewartet. Absorption von diesem Zeitpunkt an gemessen. Die Oxydationsgeschwindigkeit ist von der Heftigkeit des Schüttelns abhängig; die Zahl der Schaukelungen wird auf etwa 60 je Minute eingestellt. Ablesegenauigkeit 0,05 cm³. Da für die Bestimmung des Effektes Absorptionen von 5,5—1,5 cm³ zu verwenden sind, so beträgt die mittlere Fehlergrenze etwa 5%. Beobachtungszeit 30—90 Minuten, während welcher im inhibitorfreien Versuch etwa 20% der theoretischen Menge Sauerstoff (5/2 Mol O₂) absorbiert werden. Die Kurven sind in diesem Intervall merklich linear, so dass die graphische Auswertung der Anfangsgeschwindigkeit sicher zu bestimmen ist (vgl. Fig. 2). — Bereitung des Systems: 50 cm³ enthalten 25 mg *l*-Tyrosin (*Roche*), 17,7 mg Na₂HPO₄·2 aq, 8,5 mg KH₂PO₄ (Pufferung auf p_H = 7) + 5 cm³ der obigen Fermentlösung + 5 cm³ Inhibitor-Lösung. Versuche meist doppelt geführt mit guter Übereinstimmung. Kontrollen mit Tyrosin allein und Tyrosinase allein gehen innerhalb der Laufzeit keinen merklichen Effekt. Bei Inhibitoren, die selbst sauerstoffempfindlich sind, wird gegebenenfalls deren Verbrauch im Blindversuch bestimmt und abgezogen.

b) Jodometrisch. Thermostat von 20°. Reaktionslösung in Siebwaschflasche. Durchleiten von Sauerstoff, vorgängig mit Toluol und Wasserdampf gesättigt. Phosphat-Pufferung wie unter a). Entnahme von Proben nach passenden Zeiten und Analyse wie folgt:

Man versetzt 20 cm³ Reaktionslösung mit 0,5 cm³ 10-proz. Essigsäure, kocht zur Zerstörung von Ferment und Ausfällung der Eiweisse. Nach 10 Minuten wird filtriert, der Melamin-Eiweiss-Niederschlag zur Auswaschung des Tyrosins dreimal mit heissem Wasser, dann mit 10 cm³ 10-proz. Sodalösung gewaschen. Wieder aufgeköcht und mit 4 cm³ 10-proz. BaCl₂ versetzt. Niederschlag abfiltriert und ausgewaschen. Zusatz von 10 cm³ 10-proz. Essigsäure und wieder aufgeköcht. Ist die abgekühlte Probe klar, so wird titriert; wenn nicht, nochmals filtriert.

Zur Titration wird die Probe mit 10 cm³ KBrO₃-Lösung versetzt. Gehalt: 1,0365 g KBrO₃/Liter (1 cm³ = 1,69 mg Tyrosin); dazu 2 cm³ 50-proz. KBr-Lösung und 7,5 cm³ 20-proz. HCl. 20 Minuten verschlossen stehen lassen. Hierauf 2 cm³ 10-proz. KJ-Lösung zugeben und mit 0,02-n. Thiosulfat titrieren. 2 Mol KBrO₃ = 3 Mol Tyrosin.

Jodverbrauch im Kontrollversuch, Tyrosinase ohne Tyrosin, ist unmerklich in vier Stunden. In dieser Zeit verschwindet im Vollversuch ohne Inhibitor etwa die Hälfte des Tyrosins. Gesetz der ersten Ordnung ist erfüllt. Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit *v* (beob.) wie unter a).

Bemerkungen. Eisen(II)-sulfat wirkt in höchster Verdünnung (10^{-6}) etwas hemmend, mehr (10^{-3}) wirkt deutlich beschleunigend, ähnlich wie es *Preis* für die Cystein-Oxydation gefunden hatte.

Keine Wirkung fanden wir mit Natriumpyrophosphat und mit Arsensäure. Desgleichen war Salicylsäure wirkungslos. Diese Befunde stehen mit Angaben in der Literatur in etwelchem Widerspruch. Auch Barbitursäure und Ascorbinsäure wirken nicht, im Gegensatz zur Leberkatalase, vgl. Tabelle 2.

Im Übrigen ergibt sich vielfach Übereinstimmung in der Art und in der Stärke der Hemmungseffekte auf die Katalase und die Tyrosinase. Unter den anorganischen Antikatalyten belegt Cyanion den ersten Platz. Unter den organischen zeichnen sich die Phenole aus, bei der Tyrosinase noch ein wenig übertroffen vom Cystin. Im ganzen ist zu sagen, dass die Desensibilisierungs-Formel von *Baur-Ouillet* gerade bei den starken Antikatalyten, wo es sich um Spuren-Effekte handelt, brauchbar ist und zum Teil so vollkommen erfüllt, als es die Messgenauigkeit erlaubt. Bei den schwächeren Antikatalyten, wo deren Konzentration schon in die Grössenordnung der Substrat-Konzentration hineinragt, scheinen die Voraussetzungen, die in der Ableitung der Formel stecken, nicht mehr rein erfüllt zu sein.

Bestätigt wird, dass die Inhibitor-Funktion dieselbe ist für Antikatalyten, die den verschiedensten Stoffklassen angehören, und dieselbe bleibt für verschiedene Substrate und Fermente.

Zürich, Physik.-chem. Laboratorium
der Eidg. Techn. Hochschule. April 1939.

100. Inhibitoren der Gujakbläuung

von Emil Baur.

(12. IV. 39.)

Vor Jahresfrist machte ich in dieser Zeitschrift¹⁾ einige überprüfende Angaben über die Hemmung der durch Peroxydasen in Gang zu setzenden Bläuung wässrig-alkoholischer Gujakharzlösung mit Hydroperoxyd. Es war mit einstufigem Kolorimeter und Vergleichsfarben gemessen worden, was hier nicht genau ist, und es wurde hinzugefügt, dass die Messungen zur Beantwortung quantitativer Fragen nach besserer Methode wiederholt und erweitert werden sollten. Unter Anwendung des dreistufigen Universalkolorimeters von *Leitz-Wetzlar* ist diese Arbeit von Herrn *E. Brunnschweiler* in meinem

¹⁾ Helv. 21, 441 (1938).