

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).

Laboratorium unternommen worden. Teils um an meinen früheren Angaben eine Berichtigung anzubringen, teils um sogleich einen Vergleich der Wirkungen der Inhibitoren der Gujakbläuung mit denjenigen, die den Gegenstand der vorausgehenden Abhandlung gebildet haben, zu ermöglichen, teile ich aus *Brunnschweiler's* noch nicht abgeschlossener Untersuchung auswählend das Folgende mit:

Wir haben zwei Absichten: 1. Beweis, dass die Inhibitoren gemeinhin unspezifisch wirken. Das heisst: Inhibitoren verschiedenster chemischer Natur wirken im allgemeinen in gleicher Weise auf die verschiedensten Substrate. Es wird nur die — freilich leicht zu erfüllende — Bedingung gestellt, dass der Inhibitor ein Redoxmittel sei (ein Redoxpotential habe). — 2. Beweis, dass das quantitative Ausmass der Inhibitoren der *Baur-Ouellet-Formel* folgt, wenigstens, wenn es sich im Spureneffekte handelt und spezielle Komplikationen nicht ersichtlich oder nicht anzunehmen sind.

Peroxydase ist für H^+ -Ion empfindlich, ebenso wie Katalase und Tyrosinase. Wir fanden für Peroxydase (aus weissen Rüben) das Optimum in der Nähe von $p_H = 6$. Wegen der oft sauren oder basischen Natur der Inhibitoren ist es daher zur messenden Verfolgung der Gujakbläuung geboten, alle Lösungssysteme zu puffern. Bei gleichem p_H zeichnen sich gepufferte Systeme vor ungepufferten durch rascheren Verlauf der ganzen Bläuungs- und Entbläuungskurve aus, ein Umstand, der für den Experimentator Vorteile hat. Die sogleich tabellarisch und figürlich mitzuteilenden Angaben sind sämtlich mit gepufferten Lösungen erhalten. Dies ist ein Unterschied gegen die in Fig. 1, 2 und 3 der früheren Abhandlung¹⁾ eingetragenen Befunde. Man findet in der Tat, mit Ausnahme des Wasserstoffions selbst, nur einerlei Wirkung, nämlich Hemmung der Bläuung, während die Kurve der Entbläuung sich vorläufig gegen Inhibitoren unempfindlich gezeigt hat. Die nach Fig. 2 der früheren Abhandlung dem Urethan und Veronal zugeschriebene Bremsung der Entbläuung existiert nicht. Urethan und Veronal lassen die ganze Bläuungskurve unbeeinflusst.

Dagegen entfaltet das Wasserstoffion eine zweifache Wirkung. Vom Optimum bei $p_H = 6$ aufwärts nach höherer Acidität verzögert H^+ die Anklung und beschleunigt die Abklung. Auf jene wirkt es anti-katalytisch, auf diese katalytisch. Wenn im Versuch irgendwie unbeabsichtigt ein Rückgang der Acidität entsteht, müssen Kurven wie Fig. 2 der früheren Abhandlung herauskommen.

Auf Seite 820 gibt Fig. 1 ein Bild des Verlaufes der Bläuungskurve mit Cystein-Chlorhydrat als Inhibitor. Es wird mit Graulösung und Kompensation der Eigenfarbe des Gujakharzes unter Vorschlag des Farbfilters 8 bei λ 570 die Extinktion gemessen, die an der Skala

²⁾ Helv. 21, 443, 444 (1938).

des Instrumentes unmittelbar abzulesen ist. Auf der Ordinate der Figur werden diese Ablesungen abgetragen. Sie stellen die Konzentration des Gujakblaus in willkürlicher Einheit vor.

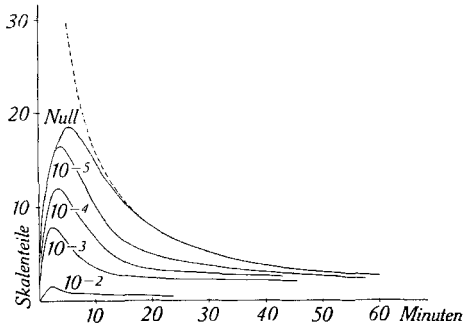


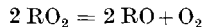
Fig. 1.
Cysteinchlorhydrat.

Das System hat die Zusammensetzung:

- 50 cm³ Puffer, bestehend aus 25 cm³ 0,1-n. Citrat + 25 cm³ 0,1-n. HCl (hat p_H = 4);
- + 50 cm³ alkoholische Gujakharzlösung, enthaltend 100 mg Gujakharz;
- + 3 cm³ Peroxydase, enthaltend 3 mg Råbenperoxydase;
- + 1 cm³ Hydroperoxyd, enthaltend 2 mg H₂O₂;
- + 11,5 cm³ Inhibitorlösung.

Zusammen 115,5 cm³ Reaktionslösung, in welcher der Inhibitor der Reihe nach die Konzentrationen: 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³, 10⁻² Mol/L durchläuft. Die Konzentration des Hydroperoxyds ist 0,5 × 10⁻³ Mol/L. Inhibitoren mit weniger als 0,5 × 10⁻³ Mol/L sind im stöchiometrischen Unterschuss gegen das für die ganze Umsetzung kinetisch vermutlich ausschlaggebende Hydroperoxyd.

Es hat sich herausgestellt, dass die Entblåung in den gepufferten Lösungen stets nach der zweiten Ordnung verlåuft. Dies deutet auf einen Vorgang etwa der folgenden Art hin:



wenn wir mit RO₂ ein durch H₂O₂ aus der Gujakonsåure entstehendes blaues Peroxyd bezeichnen. Der rechts stehende Sauerstoff kann natürlich auch das Resinol weiter oxydieren. Die in der Fig. 1 gestrichelte Kurve ist mit der Konstante λ₂ = 0,0062 nach der Gleichung

$$-\frac{dC}{dt} = \lambda_2 \cdot C^2$$

gezeichnet. Für C wird der am Kolorimeter gemessene Blåungswert eingesetzt. Die Konstante ist aus dem Verlauf des Entblåungsastes der Nullkurve von der zehnten Minute an bestimmt. Aus der integrierten Gleichung

$$\frac{1}{C_t} - \frac{1}{C_0} = \lambda_2 \cdot t$$

ist zwar der Anfangswert C₀ nur sehr unsicher zu bestimmen; allein

schon von der siebenten Minute an kann man $1/C_0$ vernachlässigen und nach

$$\frac{1}{C_i} = \lambda_2 \cdot t$$

rechnen.

Wir stehen nun vor der Aufgabe, aus den Ursprungssteigungen der Bläuungsäste der Kurven die Geschwindigkeit der Bläuung (Anfangsgeschwindigkeit proportional der Konstante der Bläuung λ_1) zu bestimmen. Es hat sich aber gezeigt, dass dies graphisch nicht mit ausreichender Sicherheit geschehen kann. λ_1 indirekt zu bestimmen aus der Beziehung¹⁾

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

wo T_{\max} der Zeitpunkt des Gipfels der Bläuungskurve ist, scheidert schon daran, dass die Verschiebung von T_{\max} zu wenig empfindlich ist. Ausserdem ist λ_2 nicht von erster Ordnung.

Unter diesen Umständen müssen wir zu Vergleichszwecken vorläufig an Stelle der λ_1 -Werte die Ordinaten der Bläuungsmaxima verwenden. Blau (max.) steht zu λ_1 nicht in direkter Beziehung. Vielmehr ist

$$\text{Blau (max.)} = \lambda_1 \cdot \frac{(\text{H}_2\text{O}_2)}{\lambda_2},$$

wo (H_2O_2) wieder von Blau (max.) abhängt. Daher kann man die Werte von Blau (max.) nicht gut zur Prüfung der *Baur-Ouellet*-Formel heranziehen. Wir müssen uns begnügen, durch graphische Interpolation die Inhibitor-Konzentrationen der halben Maximum-Bläuung und diejenigen der praktisch vollkommenen Unterdrückung der Bläuung festzustellen. Nach diesem Verfahren ist die folgende Tabelle 1 gewonnen worden.

Inhibitor	Halbwertkonzentration (Mol/L) Halbe Bläuung	Nullwertkonzentration (Mol/L) Keine Bläuung
Cystein	$3,5 \times 10^{-4}$	2×10^{-2}
Thiomilchsäure	1×10^{-4}	$\sim 10^{-3}$
Thioharnstoff	$3,5 \times 10^{-3}$	$\sim 10^{-1}$
Metol.	$2,2 \times 10^{-5}$	$\sim 10^{-4}$
Hydrochinon	$1,6 \times 10^{-4}$	2×10^{-3}
Adrenalin	$1,2 \times 10^{-3}$	$\sim 10^{-2}$
Barbitursäure	1×10^{-4}	$\sim 10^{-3}$
Mangan(II)-ion	$1,4 \times 10^{-2}$	$1,6 \times 10^{-1}$
Urethan	Keine	Keine
Veronal	Keine	Keine
Glykokoll	Keine	Keine
Phenylalanin	Keine	Keine

¹⁾ Helv. **21**, 442 (1938).

Für das Wasserstoffion als Inhibitor ist noch hinzuzufügen:

Höchstwert maximaler Bläuung bei $H^+ = 10^{-6}$ Mol/L.

Halbwert maximaler Bläuung bei $H^+ = 3 \cdot 10^{-6}$ Mol/L.

Nullwert maximaler Bläuung bei $H^+ = 10^{-3}$ Mol/L.

In der Tabelle trifft man wieder, wie bei der Katalase und der Tyrosinase, als tüchtige Inhibitoren die Thiokörper, die Phenole, ein Schlafmittel, das Mangan(II)-ion. Ähnlich dem letzteren wirkt Kobaltion; ähnlich wie Adrenalin die Ascorbinsäure; nicht in die Tabelle aufgenommen, da noch unvollständig bekannt. Aminosäuren, auch sonst schwächer befunden, haben keine deutliche antikatalytische Kraft bekundet. Merkwürdig ist, dass Urethan und Veronal sich unwirksam zeigten. Auch Phenol hat versagt; vielleicht reagiert es mit dem Gujakharz. Auf diese und andere Sonderfälle wird zurückzukommen sein.

In ganzen sei festgestellt, dass die Hemmung der Gujakbläuung in ihrem qualitativen und quantitativen Charakter sich völlig einordnet unter die anderen, im hiesigen Institut untersuchten, Inhibitionen mit und ohne Fermente.

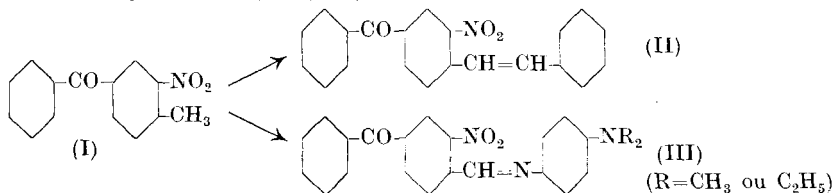
Zürich, Physikal.-chem. Laboratorium
der Eidg. Techn. Hochschule. April 1939.

101. Sur l'aptitude réactionnelle du groupement méthylique II. Dérivés de la benzophénone et du benzile

par Louis Chardonens et Josef Venetz.

(18. IV. 39.)

Dans une communication antérieure¹⁾, l'un de nous a montré que dans la 4-méthyl-3-nitro-benzophénone (I) le groupe méthylique est rendu réactif par la présence simultanée du groupe nitro en position ortho et du groupe benzoyle en position para. Ce composé se condense en effet, soit avec l'aldéhyde benzoïque en présence de pipéridine pour donner la 3-nitro-4-styryl-benzophénone (II), soit avec la p-nitroso-diméthylaniline ou la p-nitroso-diéthylaniline, en solution alcoolique, en présence de carbonate de sodium, pour donner le p-diméthylamino-anile ou le p-diéthylamino-anile de l'aldéhyde 2-nitro-4-benzoyl-benzoïque (III).



¹⁾ Helv. **16**, 1295 (1933).