

2. Fraktion (70 % Alkohol) gab eine sehr schwache, aber noch deutliche Reaktion auf Eisen.

Aus obigen Versuchen ergibt sich, daß die Anwesenheit von Mangan- und Eisenverbindungen für das Zustandekommen der Oxydasewirkung keineswegs ausschlaggebend ist. Dieser Befund, der die Bertrandsche Auffassung hinfällig macht, stimmt dagegen mit der von mir¹⁾ vor 13 Jahren zuerst aufgestellten und jetzt von mehreren Forschern vertretenen Peroxydtheorie der Oxydasen vollkommen überein. Schon damals betonte ich, daß in der Oxydation des Indigoblaus durch den Luftsauerstoff in Gegenwart von Benzaldehyd das Bild der Oxydasewirkung vorliegt. Damit ist aber nicht gesagt, daß die im Pflanzen- und Tierkörper vorkommenden Metallverbindungen auf die Oxydasewirkung keinen Einfluß ausüben. Wie in nachstehender Mitteilung bewiesen wird, beschleunigen sie die weitere Umwandlung der primär entstehenden Oxydationsprodukte, wodurch indirekt die Oxydasewirkung beschleunigt werden kann.

Genf, Privatlaboratorium.

53. A. Bach: Zur Theorie der Oxydasewirkung.

II. Einfluß der Metallsalze auf die weitere Umwandlung der Produkte der Oxydasewirkung.

(Eingeg. am 17. Jan. 1910; mitget. in der Sitzung von Hrn. G. Lockemann.)

Wir verdanken G. Bertrand²⁾ die ersten Beobachtungen über den Einfluß der Metallsalze auf die Oxydasewirkung. Er fand, daß die Wirkung der manganarmen Luzerne-Oxydase durch Zusatz von Mangansalzen beträchtlich erhöht werden kann. Da er das Mangan als das einzig wirksame Agens der Oxydasen ansah, so konnte er natürlicherweise diesen Befund nur im Sinne seiner Ansicht deuten. Viel klarer und wichtiger sind die von C. Gessard³⁾ gemachten Beobachtungen über den Einfluß der Metallsalze auf die Wirkung der Tyrosinase. Bekanntlich entstehen bei der Einwirkung von Tyrosinase auf Tyrosin rot gefärbte Produkte, die sich allmählich in schwarze, melaninartige Körper umwandeln. Gessard fand nun, daß bei ge-

¹⁾ A. Bach, Du rôle des peroxydes dans les phénomènes d'oxydation lente, *Compt. rend.* **124**, 951 [1897]; *Moniteur Scientifique* **11**, 479 [1897].

²⁾ G. Bertrand, *Compt. rend.* **124**, 1032 [1897].

³⁾ C. Gessard, Sur la tyrosinase. *Compt. rend.* **130**, 1327 [1900].

wissen Tyrosinasepräparaten die weitere Umwandlung der roten Produkte sehr langsam vor sich geht und daß in diesen Fällen der Prozeß der Melaninbildung durch Zusatz von Metallsalzen (Erdalkalien) derartig beschleunigt wird, daß die Bildung der roten Produkte sogar unbemerkt bleiben kann. Diese Beobachtungen Gessards konnte ich bestätigen und erweitern.

Gelegentlich einiger Versuche über die Regenerierung von bei längerem Aufbewahren inaktiv gewordenen Tyrosinasepräparaten mittels Aluminiumamalgam beobachtete ich, daß die mit diesem Reduktionsmittel behandelten Tyrosinaselösungen außerordentlich die Wirkung aktiver Präparate beschleunigten, ohne für sich auf Tyrosin einzuwirken. Die nähere Untersuchung ergab, daß hier die Beschleunigung der Tyrosinasewirkung auf die Anwesenheit von kolloidalem Aluminiumhydroxyd zurückzuführen war. Auch andere Aluminiumverbindungen erwiesen sich als sehr wirksam. Die beschleunigende Wirkung der Aluminiumsalze übertrifft bei weitem die der anderen Metallsalze und tritt besonders zum Vorschein, wenn man mit reineren Tyrosinasepräparaten zu tun hat. Um festzustellen, ob hier die Tyrosinasewirkung selbst oder nur die weitere Umwandlung der bereits entstandenen Oxydationsprodukte beschleunigt wird, führte ich folgenden Versuch aus:

Von der tyrosinasereichen 5. Fraktion (vergl. voranstehende Mitteilungen) wurden 0.05 g in 50 ccm Wasser gelöst und mit 50 ccm heiß gesättigter Tyrosinlösung vermischt. Schon nach 20 Minuten war das Gemisch tief rot gefärbt. Es wurde dann vorsichtig auf 80° behufs Zerstörung der Tyrosinase erhitzt¹⁾, ein Anteil wurde zur Kontrolle aufbewahrt, der Rest wurde mit einigen Tropfen 1-prozentiger Aluminiumsulfatlösung versetzt. Während die Kontrollprobe längere Zeit unverändert blieb, färbte sich die mit Aluminiumsulfat versetzte Probe schon nach 2 Minuten violett; nach 10 Minuten war sie tintig schwarz, nach ca. 1 Stunde fiel der für die Tyrosinasewirkung charakteristische schwarze Körper aus. Zu bemerken ist noch, daß Aluminiumsulfat weder für sich allein, noch in Gegenwart von Hydroperoxyd und Peroxydase auf Tyrosin die mindeste Wirkung ausübt. Andere Metallsalze (Ca, Mg, Mn, Zn) beschleunigen ebenfalls die Umwandlung des roten Körpers, aber in geringerem Maße, als Aluminiumsalze.

Aus diesem Versuch ist klar ersichtlich, daß die Metallsalze lediglich die weitere Umwandlung der bereits entstandenen Oxydationsprodukte bewirken, ohne sich an dem primären Oxydationsprozeß, d. i. an der Sauerstoffaufnahme und Sauerstoffaktivierung, zu beteiligen.

Da das bei dem obigen Versuch angewandte Oxydasepräparat nicht nur Tyrosinase, sondern auch Phenolasen enthielt, so wurde sein Verhalten gegen Aluminiumsalze auch bei der Oxydation von Phenolen

¹⁾ Beim raschen Erhitzen zum Sieden verschwindet die Färbung.

untersucht. Es zeigte sich, daß die weitere Umwandlung der bei der Einwirkung von Oxydase auf Pyrogallol entstehenden gelben Produkte durch Aluminiumsalze in auffallender Weise beschleunigt wird (Bildung von Purpurgallin). Weitere Versuche ergaben, daß dabei gleichgültig ist, ob die primären gelben Oxydationsprodukte bei der freiwilligen Oxydation des Pyrogallols, bei der Einwirkung von Oxydase oder bei der des Hydroperoxyds entstanden sind. Andererseits üben Aluminiumsalze auf die Sauerstoffaufnahme durch Pyrogallol für sich oder in Gegenwart von gekochter Oxydase keinen merkbaren Einfluß aus, mindestens bei den ersten Phasen des Oxydationsprozesses. Andere Metallsalze wirken auf die Umwandlung der gelben Oxydationsprodukte ebenfalls beschleunigend, aber in geringerem Maße, als Aluminiumsalze. Bei der Umwandlung der primären Oxydationsprodukte des Hydrochinons sind Mangansalze bei weitem wirksamer, als Aluminiumsalze.

Ogleich also die Metallsalze an der eigentlichen Oxydasewirkung direkt sich nicht beteiligen, können sie doch unter Umständen die Oxydasewirkung indirekt beschleunigen. Diese indirekte Beschleunigung findet da statt, wo die primären Oxydationsprodukte wegen der Tendenz zur Herstellung von Gleichgewichtszuständen auf den Oxydationsprozeß hemmend wirken. Indem sie die weitere Umwandlung der primären Oxydationsprodukte (meistens unter Ausscheidung von schwer löslichen Verbindungen) bewirken, vermindern die Metallsalze die Hemmungen der Reaktion und beschleunigen daher indirekt die Sauerstoffaufnahme. Der beschleunigende Einfluß der Mangansalze auf die Oxydation der trocknenden Öle, des Hydrochinons und anderer Körper, die schon für sich allein Sauerstoff mit meßbarer Geschwindigkeit aufnehmen, ist auf eine derartige Gegenwirkung den Hemmungen der Reaktion zurückzuführen. Was den Mechanismus dieser Beschleunigung anbelangt, so ist die Annahme am wahrscheinlichsten, daß die Metallsalze in ähnlicher Weise, wie die Peroxydasen, die Übertragung des labilen Sauerstoffs der primär entstehenden peroxydartigen Komplexe auf das noch nicht oxydierte Substrat bewirken.

Unsere Kenntnisse über die Oxydasewirkung lassen sich in ihren Grundzügen folgenderweise zusammenfassen:

Die Substrate, auf die die Wirkung der Oxydasen sich erstreckt, besitzen schon für sich allein die Fähigkeit, Sauerstoff bei gewöhnlicher Temperatur aufzunehmen und bestimmte Oxydationsprodukte zu bilden. Dieser Oxydationsprozeß kann durch gewisse leicht oxydierbare Körper (Äther, Aldehyde, Terpene usw.), sowie durch den sauerstoffaufnehmenden Anteil der Oxydasen (»Oxygenasen«) in hohem

Maße katalytisch beschleunigt werden. Da die Beschleunigung des Oxydationsprozesses durch die erwähnten leicht oxydierbaren Körper nachgewiesenermaßen auf der Sauerstoffaktivierung durch intermediäre Bildung von Peroxyden beruht, so ist eine Peroxydbildung auch bei den Oxygenasen anzunehmen. Die Umwandlung der primär entstehenden Oxydationsprodukte in die Endprodukte der Reaktion (Purpurogallin, Chinhydron, Farbstoffe usw.) wird weiter durch eine zweite Art katalytischer Agenzien beschleunigt. Es sind dies gewisse Metallsalze einerseits, Peroxydasen andererseits. Diese Agenzien beschleunigen die Übertragung des Peroxydsauerstoffs auf das noch nicht oxydierte Substrat. Die katalytischen Systeme: leicht oxydierbarer Körper (bezw. Peroxyd) — Metallsalz und Oxygenase — Peroxydase sind zweifellos nach demselben chemischen Prinzip konstruiert, da man durch Kombinieren der entsprechenden Elemente dieser Systeme die gemischten wirksamen Systeme: oxydierbarer Körper (bezw. Peroxyd) — Peroxydase und Oxygenase — Metallsalz darstellen kann.

Die Oxydasewirkung ist also als ein zweiphasiger, durch zwei Arten katalytischer Agenzien herbeigeführter Prozeß aufzufassen: der molekulare Sauerstoff wird von den Oxygenasen unter Peroxydbildung aktiviert, von den Peroxydasen wird der labile Peroxydsauerstoff auf das Substrat übertragen.

Allerdings gilt zurzeit diese Interpretation nur für die Phenolasen, bei denen die Oxygenase durch leicht oxydierbare Stoffe bezw. Peroxyde und die Peroxydase durch Metallsalze ersetzbar ist. Bei der Tyrosinase ist zwar der Einfluß der Metallsalze noch deutlicher, als bei den Phenolasen, aber die Metallsalze lassen sich hier durch die gewöhnliche Peroxydase nicht ersetzen. Ebenso wenig konnte ich bisher die primäre Oxydation des Tyrosins zu dem roten Körper durch die Vermittelung von verschiedenen Peroxyden oder von leicht oxydierbaren Substanzen in Gegenwart von freiem Sauerstoff ausführen. Ähnlich gestalten sich auch die Verhältnisse bei der Alkohol-Oxydase und bei den Purin-Oxydasen. Für diese Oxydasen wird sich wahrscheinlich die sehr interessante Erklärungsweise von Engler und Herzog¹⁾ als zutreffend erweisen. Sie nehmen an, daß in diesen Fällen wirksame Peroxyde entstehen, die den Peroxydsauerstoff an oxydierbare Substrate abgeben, ohne dazu noch eines Aktivators (Peroxydase) zu bedürfen.

Daß die Natur der an die Peroxydgruppe .O.O. gebundenen Radikale für den Verlauf des Oxydationsprozesses maßgebend ist,

¹⁾ Engler und Herzog, Zur chemischen Erklärung biol. Oxydationsreaktionen. Ztschr. f. physiol. Chem. **59**, 327 [1909].

wurde durch die schönen Arbeiten von Baeyer und Villiger über substituierte Hydroperoxyde festgestellt.

Die Tyrosinasewirkung wäre demnach als ein durch das katalytische System spezifische Oxygenase — Metallsalz bewirkter Prozeß aufzufassen.

Genf. Privatlaboratorium.

54. William Küster: Beiträge zur Kenntnis des Blutfarbstoffs.

[Mitteilung aus dem Chem. Institut der Tierärztl. Hochschule Stuttgart.]

(Eingegangen am 22. Januar 1910.)

Vor drei Jahren haben K. Fuchs und ich ein neues, krystallisiertes, eisenfreies Derivat des Hämins beschrieben¹⁾, das wir als Nebenprodukt bei der Einwirkung von Anilin auf Mörner-Hämin in ganz geringer Menge erhielten. Gerade deshalb hielten wir es für wahrscheinlich, daß sich der neue Körper, für den sich auf Grund der Analyse die Formel $C_{36}H_{36}O_3N_4$ berechnen ließ, aus einem äthylierten Hämin gebildet habe, das von der Darstellung her dem Mörner-Hämin beigemengt war, nachdem zugleich die zur Fällung des Hämins nötige Salzsäure eine Abspaltung des Eisens bewirkt hatte. Diese Ansicht hat sich indessen nicht als richtig erwiesen, denn das nach Schalfejews Methode hergestellte Acethämin ergab bei der Überführung in Dehydrochloridhämin, die ja durch die Einwirkung von Anilin bewerkstelligt wird, anscheinend denselben Körper und zwar wiederum in geringer Menge²⁾.

Die Auffindung dieses Körpers, über dessen Natur ich einstweilen um so weniger eine Aufklärung geben kann, als neuere Analysen von der ersten Bestimmung abweichende Werte ergaben, ist für uns Veranlassung gewesen, nach einer Darstellungsweise der eisenfreien Muttersubstanz des Hämatins zu suchen, von der sich ja nach unserer ersten Vorstellung der neue Körper ableiten mußte, und diese Versuche haben mich zu einer Auffassung der zwischen Hämin und Hämatin einerseits, zwischen diesen und dem Blutfarbstoff andererseits bestehenden Beziehungen geführt, die von der üblichen in einigen wesentlichen Punkten abweicht, zugleich aber die Erklärung für das Verhalten der in Betracht kommenden Körper in sich birgt.

¹⁾ Diese Berichte **40**, 2021 [1907].

²⁾ Aus 97 g Acethämin wurden 1.1 g erhalten.