

Ueber das Aldehyde oxydirende Ferment der Leber und Nebenniere.¹⁾

Von

Dr. **Martin Jacoby** aus Berlin.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge, Nr. 33.)
(Der Redaction zugegangen am 20. Juni 1900.)

In einer früheren Arbeit²⁾ wurde unter Berücksichtigung der Litteratur ausgeführt, dass man in der Leber eine beträchtliche Zahl von Fermentwirkungen annehmen müsse. Da es klar ist, dass eine genauere Kenntniss der Fermente der Leber und ihrer Wirkungsweise die Vorstellungen über die Function des Organs beeinflussen muss, war es wünschenswerth, sie nach Möglichkeit zu isoliren und die Wirkungen der einzelnen Fermente für sich zu studiren.

In der vorliegenden Arbeit soll über Versuche berichtet werden, welche sich auf das Aldehyde oxydirende Ferment der Leber beziehen.

I. Versuche zur Isolirung des Salicylaldehyd oxydirenden Ferments.

Bei Beginn meiner Untersuchungen lag über diesen Punkt meines Wissens nur die Arbeit Spitzer's³⁾ vor.

1) Der Aufenthalt in Strassburg und die Ausführung der dieser und den folgenden Mittheilungen zu Grunde liegenden kostspieligen Versuche wurde mir durch ein Reisestipendium ermöglicht, welches mir von der Berliner medicinischen Fakultät aus der Gräfin Bose-Stiftung gewährt wurde. Für diese reichliche Zuwendung sage ich meinen er-
lebensten Dank.

2) Virchow's Archiv, Bd. 157, 1899.

3) Pflüger's Archiv, Bd. 67, 1897.

Spitzer nimmt an, dass die Oxydationsfermente des Organismus einheitlicher Natur, an die Nucleoproteide und im Einzelnen an das in den Nucleoproteiden organisch gebundene Eisen geknüpft sind.

Abelous und Biarnès¹⁾ fanden die Guajakreaction an Globuline gebunden, die sie aus Milz, Lunge und Fibrin isolirten. Die Autoren heben ausdrücklich hervor, dass diese Globuline nicht Salicylaldehyd oxydiren.

Endlich konnte Raudnitz²⁾ aus der Milch durch Aus-salzung Niederschläge erhalten, welche je nach dem metho-dischen Vorgehen Wasserstoffsperoxyd zersetzten oder Guajak-tinctur bläuten.

Da es mehrere Oxydationsfermente in der Leber gibt, so können wir das Salicylaldehyd oxydierende Ferment der Leber nicht ohne Weiteres als « das Oxydationsferment » be-zeichnen: wir werden daher in Anlehnung an die namentlich von den französischen Autoren ausgebildete Nomenclatur von der Aldehydase der Leber sprechen. Diesen Ausdruck wählen wir als den kürzeren, obschon zunächst noch die Fassung « Salicylaldehydase » angezeigt wäre.

Nummehr werde ich ein Verfahren zur Isolirung der Aldehydase schildern, das sich nach einigen Vorversuchen als zweckmässig erwies, und im Anschluss daran noch einige Punkte der Methodik besonders besprechen.

Der Nachweis des Vorhandenseins des Fermentes in einer Lösung, resp. die Feststellung aus Salicylaldehyd ge-bildeter Salicylsäure wurde, wie in meiner früheren Arbeit, nach den Angaben von Salkowski³⁾ ausgeführt. Es gelingt auf diese Weise vollkommen sicher, jede Spur von Salicyl-aldehyd zu vertreiben und Salicylsäure auch in sehr kleinen Quantitäten unzweifelhaft nachzuweisen.

1) Arch. de physiologie, 1898.

2) Centralblatt für Physiologie, 1899.

3) Virchow's Archiv, Bd. 147, 1898.

Vom Schlachthaus bezogene frische Rindsleber wird zerhackt, mit Quarzsand¹⁾ zerrieben, der Brei mit destillirtem Wasser, dem Toluol im Ueberschuss zugefügt ist, mindestens einige Stunden stehen gelassen und häufig durchgeschüttelt. Dann wird das Extract vom Rückstand durch Coliren und Filtriren getrennt.

Das so gewonnene dunkle, aber völlig klare Filtrat wird mit so viel gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, dass 25%ige Sättigung mit diesem Salze erreicht wird. Dabei werden hier, wie auch fernerhin immer, wenn Ammonsulfat in Anwendung gezogen wird, so viel Tropfen verdünnter Sodalösung hinzugehan, dass die Flüssigkeit schwach alkalisch reagirt und deutlich nach Ammoniak riecht. In etwa 24 Stunden setzt sich dann allmählich ein geringer Niederschlag ab, der abfiltrirt wird. Das Filtrat wird in gleicher Weise auf 33 $\frac{1}{3}$ %ige Sättigung mit Salz gebracht, der Niederschlag wiederum nach 24 Stunden durch Filtriren entfernt. Das so erhaltene wasserklare, ziemlich dunkle Filtrat wird auf 60%ige Sättigung mit Ammonsulfat gebracht. Dabei entsteht ein massiger Niederschlag, der sich meistens in 24 Stunden vollständig absetzt.

Dieser Niederschlag, welcher die Aldehydase enthält, wird nach 24 Stunden abfiltrirt, mit entsprechender Salzlösung ausgewaschen und dann in destillirtem Wasser aufgenommen, wobei er sich nur unvollkommen löst. Frühestens nach einigen Stunden wird wiederum filtrirt. Das klare Filtrat wird mit 95%igem Alkohol soweit versetzt, dass gerade ein gut abfiltrirbarer Niederschlag entsteht. Dieser Niederschlag hat sich nach einigen Minuten bereits abgesetzt und wird nun sofort von der Flüssigkeit durch Filtriren getrennt. Es genügt, Alkohol in einer Quantität zuzusetzen, dass die Concentration desselben höchstens 30% beträgt. Der abfiltrirte Niederschlag wird sofort mindestens 5—6 Mal mit kleineren Mengen destillirten Wassers, dem man einige Tropfen verdünnter Sodalösung zu-

¹⁾ Es wurde ein vorzüglicher Quarzsand angewandt, wie er bei dem Buchner'schen Verfahren zur Herstellung von Presssäften benutzt wird.

fügt, extrahirt, die Auszüge werden vereinigt. Am besten lässt man den Niederschlag, um das Ferment möglichst vollständig in Lösung zu bringen, fein vertheilt über Nacht mit Wasser stehen.

Man hat nunmehr bereits eine helle Flüssigkeit, die aber regelmässig noch Eiweiss enthält. Sie wird bei schwach alkalischer, durch Soda hergestellter Reaction mit einer verdünnten Lösung von Uranylacetat bis zum Entstehen einer abfiltrirbaren Trübung gefällt, der Niederschlag ebenso wie der durch Alkoholfällung gewonnene behandelt.

Es resultirt eine wasserklare Flüssigkeit, die kräftig Salicylaldehyd zu Salicylsäure oxydirt.

Hier sei vorläufig nur bemerkt, dass diese Fermentlösung keine der typischen Eiweissreactionen gibt; auf ihr Verhalten wird unten noch eingegangen werden.

Diese Methodik bedarf in einigen Punkten besonderer Besprechung, einmal, weil erst dann einige zunächst unverständliche Complicationen gerechtfertigt erscheinen werden, sodann aber, weil sich einige Eigenschaften des Fermentes bei den auf die Ausarbeitung des Verfahrens hinzielenden Versuchen ermitteln liessen.

Von vornherein muss hervorgehoben werden, dass nicht alle beschriebenen Manipulationen unbedingt nothwendig sind, sondern nur regelmässig ausgeführt wurden, weil so die grösste Sicherheit gegeben schien, ein möglichst isolirtes, hinreichend wirksames Ferment zu erhalten. Andererseits war auch nicht beabsichtigt, das Ausgangsmaterial quantitativ auszunützen, sondern im Interesse der bequemeren Darstellung, sowie der möglichst guten Reinigung wurde an verschiedenen Punkten auf vollständige Ausbeute verzichtet.

Es soll auch nicht verschwiegen werden, dass man infolge der nach einigen Richtungen grossen Empfindlichkeit des Fermentes nicht sicher darauf rechnen kann, bei jeder Darstellung ein wirksames Ferment zu erhalten. Zu beachten ist, dass auch nur vorübergehende Anwesenheit saurer Reaction das Ferment dauernd zerstört, die Verzögerung der Extraction des Fermentes, nachdem es mit Eiweiss zusammen gefällt ist, die nachträgliche Lösung erheblich erschwert.

Das Verreiben des Leberbreies mit Quarzsand wurde in Anwendung gebracht, weil anzunehmen ist, dass nach der so erzielten Zertrümmerung vieler Zellwände die Extraction des Fermentes eine viel ausgiebigere sein kann. Im Verlaufe der Vorversuche war auch versucht worden,

die Buchner'sche Presse zur Extraction zu benutzen. Diese Methode wurde jedoch bald wieder verlassen, da in dem vorliegenden Falle die gehörige Zertrümmerung der Zellwände durch Zerreiben mit möglichst hartem Material ebensoviel leistet wie die Extraction mittelst der Presse.

Als Antisepticum wurde Toluol angewandt. Man hätte zu diesen Versuchen natürlich auch das von Salkowski für Fermentstudien empfohlene Chloroform anwenden können, zumal seine Brauchbarkeit beim Arbeiten mit der Aldehydase bereits erprobt ist. Es erschien jedoch zweckmässig, bei den in dieser Arbeit zu besprechenden Versuchen das im hiesigen Institute nach den verschiedensten Richtungen hin geprüfte Toluol zu benutzen. Das Toluol setzt sich bekanntlich, soweit es im Ueberschuss vorhanden ist, an der Oberfläche der wässrigen Flüssigkeit ab und bildet so eine bei den zahlreichen Manipulationen, denen unsere Fermentlösungen unterworfen werden mussten, willkommene Schutzwehr gegen das Eindringen von Bakterien und namentlich auch von Schimmelpilzen.

Obwohl Täuschungen kaum zu befürchten waren, wurde natürlich besonders festgestellt, dass Toluol in der angewandten Concentration weder die Wirkungen der Aldehydase beeinträchtigt noch vortäuscht.

Auf die Aussalzbarkeit des Fermentes komme ich noch zurück; hier sei nur bemerkt, dass die allmähliche Entfernung der ersten unwirksamen Aussatzungsfraktionen sich als nützlich erwies; es liess sich so leichter vermeiden, dass mit den ersten Niederschlägen das Ferment mitgerissen wurde und in Folge der mangelhaften Auswaschbarkeit der Salzniederschläge auf dem Filter zurückblieb.

Der kleine Sodazusatz zu den Ammonsulfatlösungen wurde eingeführt, weil in den neutralen Lösungen das Ferment bei den Vorversuchen durchweg zerstört wurde, vermuthlich weil durch Abgeben von Ammoniak leicht saure Reaction auftrat.

Von Metallfällungsmitteln wurde Uranylacetat gewählt, weil Eiweissfällung sich mit diesem Metallsalz bei alkalischer Reaction gut erzielen lässt.

II. Eigenschaften der Aldehydase.

Eine Reihe von Eigenschaften der Aldehydase ergeben sich bereits aus dem bei der Methode besprochenen Verhalten gegen gewisse Reagentien, Anderes musste durch besondere Versuche ermittelt werden.

Das Ferment ist in Wasser klar löslich.¹⁾ Dieser Umstand muss besonders hervorgehoben werden, weil möglicher

¹⁾ Abelous und Biarnès (Arch. de physiol. 1898) fanden ihr Majakbläuendes Ferment in Wasser unlöslich.

Weise in der Zelle das Ferment sich nicht in Wasser gelöst befindet. Namentlich Spitzer¹⁾ hat darauf hingewiesen, wie unvollkommen das Ferment aus dem Gewebe zu extrahiren ist. Wahrscheinlich verhindern die Zellwände das Eindringen des Extractionsmittels, und es ist anzunehmen, dass energische Zertrümmerung derselben wesentlich dazu beiträgt, möglichst viel Ferment in Lösung zu bringen.

Nachdem die Löslichkeit in Wasser sichergestellt war, konnte man erwarten, dass das Ferment auch in Chloroformwasser oder Toluolwasser übergehen würde. Das ergab sich auch in entsprechenden Versuchen.

Die Aldehydase ist aussalzbar. Diese Eigenschaft theilt sie mit vielen Fermenten. Bekanntlich beruhen mehrere Methoden der Fermentisolirung darauf, Niederschläge in den Fermentlösungen herzustellen, mit denen das Ferment niedergelassen wird.

Die Aldehydase wird aber erst bei einer bestimmten Concentration der Salzlösung ausgesalzen (nicht unter 30% iger Sättigung mit Ammonsulfat), und die Aussalzung wird bei einer bestimmten Concentration der Salzlösung vollständig (etwa bei 60% iger Sättigung mit Ammonsulfat).

Die Aldehydase lässt sich also durch fractionirtes Aussalzen von anderen Substanzen trennen. Es ist das keine isolirt dastehende Thatsache. Wohl die älteste hierher gehörende Beobachtung rührt von Paschutin²⁾ her, der die Pankreasenzyme einigermaßen in der Art trennte, dass er das Pankreas mit verschiedenen Salzlösungen extrahirte.

Nachdem von mir das Verhalten der Aldehydase gegen Ammonsulfat bereits festgestellt war, erschien eine vorläufige Mittheilung von Raudnitz³⁾ über die Fermentreactionen der Milch, in der er für die Guajakreaction der Milch mittelst Ammonsulfat ganz bestimmte Fällungsgrenzen (21—29% fand. Bemerkenswerth ist ferner, dass nach Abelous und

1) Pflüger's Archiv, Bd. LXVII, 1897.

2) Centralblatt für die medic. Wissenschaften 1872.

3) Centralbl. f. Phys. 1899.

Biarnès¹⁾ ihr guajakbläuendes Ferment durch Magnesiumsulfat ausgefällt wird.

Das Ferment dialysirt nicht durch den Pergamentschlauch, wenigstens nicht merklich bei 3—4 tägiger Dialyse gegen fließendes Wasser. Ob es quantitativ zurückgehalten wird, oder ob vielleicht geringe Mengen in der Zeit den Schlauch passieren, wurde nicht untersucht: es wurde lediglich nachgewiesen, dass nach Beendigung der Dialyse reichliche Quantitäten des Fermentes im Schlauch nachweisbar waren. Unsern Befund so vorsichtig auszudrücken, erscheint nothwendig im Hinblick auf eine Arbeit von Chodschajew,²⁾ welcher angibt, dass Invertin, das amylytische Ferment des Malzes, Emulsin, Trypsin und Pepsin — wenn auch langsam — dialysiren. Auf eine Discussion seiner Versuche verzichte ich, da ich sie nicht nachgeprüft habe. Ich möchte nur bemerken, dass sich in meinen Versuchen für seine Hypothese, die er allerdings selbst nicht als die allein mögliche hinstellt — wonach die Fermente wahrscheinlich Albumosen wären —, keinerlei Anhaltspunkte ergaben; im Gegentheil, für das untersuchte Leberferment liess sich diese Annahme sicher ausschliessen.

Von physiologischem Interesse ist der Nachweis, dass auch bei intensiver Durchspülung das Ferment nicht aus der Leber verschwindet. Hierfür kann man bereits aus der Litteratur die Angabe von Spitzer³⁾ anführen, der bei der Darstellung seiner Fermentlösungen vorher die Leber von der Pfortader aus tüchtig mit Wasser ausspülte.

Ich kann dafür folgenden Versuch beibringen:

Ein Hund wird mit Aether tief narkotisirt, der Thorax eröffnet. Allmählich werden im Ganzen 15 Liter 0.7%ige Kochsalzlösung von der Aorta descendens thoracica aus eingeführt. In kurzer Zeit wird die aus der Vena portae ablaufende Flüssigkeit gänzlich farblos. Die Leber ist völlig mit wässriger Flüssigkeit durchtränkt. Der Leberbrei oxydirt reichlich Salicylaldehyd, auch Extracte sind sehr wirksam, ebenso die Lungen des Thieres.

1) Arch. de physiol. 1898.

2) Arch. de physiol. 1898.

3) Pflüger's Arch., Bd. LXVII, 1897.

Diese geringe Diffusibilität des Fermentes steht mit den Befunden von Salkowski¹⁾ und Abelous und Biarnès,²⁾ nach denen das Blut nur verhältnissmässig wenig Aldehyd oxydirt, im Einklang. Würde nämlich das Ferment leicht aus den Organen herausdiffundiren, so wäre zu erwarten, dass man es reichlich im Blut antrifft, ja es würde sogar in den Harn übertreten können. In der Galle konnte ich bei zwei eigenen Versuchen keine Spur von Aldehydase nachweisen. Die Angabe von Portier,³⁾ die Leber enthalte kein oxydatives Ferment, dasselbe werde erst in der Gallenblase gebildet, kann ich also jedenfalls für die Aldehydase nicht bestätigen.

Das Verhalten bei der Dialyse, daneben die Aussalzbarkeit und die Zerstörung durch die Siedehitze entsprechen, wenn auch nicht zwingend, der Annahme, dass es sich um eine colloidale Substanz handelt.

Bei einem Druck von 6 Atmosphären — weniger wurde nicht angewandt — passirte das Ferment das Chamberland'sche Filter, was insofern bemerkenswerth ist, als das in den betreffenden Lösungen befindliche Eiweiss zurückgehalten wurde.

Bezüglich des Verhaltens des Fermentes gegen Alkohol⁴⁾ sei bemerkt, dass bereits bei der ersten Trübung, welche bei der Fällung mit Alkohol auftritt, Ferment mitgefällt wird, dass aber in dünnem Alkohol (etwa 20%igem) die Aldehydase ganz deutlich löslich ist. Nöthig ist es, wie schon ausgeführt, das mit Alkohol gefällte Ferment schnell wieder in Wasser zu lösen, wenn es nicht seine Löslichkeit verlieren soll.

Mit Tannin wird das Ferment ebenfalls gefällt.

In Betreff der Abscheidung mit Uranylacetat sei noch folgende Bemerkung gestattet. Wenn man aus einer ziemlich

1) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. VII, 1882 u. Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1893 und (nach Versuchen von Jamagiwa) 1894.

2) Arch. de physiol. 1898.

3) Thèse de Paris 1898, citirt nach Maly's Jahresb.

4) Bereits Jaquet (Arch. f. exper. Path., Bd. XXIX, 1892) und nach ihm viele Andere haben festgestellt, dass Alkohol das Ferment nicht völlig zerstört und dass man dasselbe mit Alkohol fällen kann.

eiweissarmen Fermentlösung, wie man sie z. B. durch Extraction der Alkoholniederschläge erhält, die Aldehydase und das Eiweiss mit einer Lösung von Uranylacetat bei schwach alkalischer Reaction ausfällt, so entsteht ein nicht sehr voluminöser Niederschlag, der anscheinend in Wasser ganz unlöslich ist. Der wässrige Auszug des Niederschlages sieht farblos aus, während der Niederschlag selbst bei der Extraction nicht in wahrnehmbarer Weise abnimmt. Man erhält so eine wirksame Fermentlösung, die wasserklar, völlig ungefärbt ist und ganz schwach alkalisch reagirt. Beim Kochen, beim Zusatz von Ammonsulfat oder von Essigsäure trübt sich die Flüssigkeit nicht. Die Biuretprobe und die Millon'sche Reaction fallen negativ aus.

Eine derartige Fermentlösung wird bei Zimmertemperatur allmählich von einem Volumen von 2 Liter bis zur Trockene eingeeengt. Man erhält einen bräunlichen Rückstand von geringer Quantität, auf dessen Oberfläche sich eine Schicht Krystalle ausscheidet, die sich als Ammonsulfat erweisen. Die Krystalle werden mechanisch durch Abpinseln entfernt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, wobei er ziemlich vollständig in Lösung geht. Nach dem Filtriren erhält man eine klargelbe Flüssigkeit, die stark sauer reagirt und geruchlos ist. Mit Tannin entsteht eine schwache, aber unzweifelhafte Trübung, deren Auftreten man namentlich unter dem Mikroskop sehr gut beobachten kann, eine starke Trübung entsteht mit Phosphorwolframsäure. Die Lösung enthält noch Ammonsulfat, wie die Reactionen mit Baryumchlorid, Platinchlorid und dem Nessler'schen Reagens anzeigen. Die Biuretprobe und die Millon'sche Reaction sind auch in der sehr eingeeengten Lösung negativ.

Nach Alledem ist die Aldehydase ein in Wasser löslicher Körper, der durch die Siedehitze, durch geringe Mengen freier Säure, aber auch durch freies Alkali, anscheinend am wenigsten durch Ammoniak seine oxydirende Wirkung einbüsst. Der Körper wird durch Alkohol, Tannin und Uranylacetat gefällt und kann nach der Alkohol- und Uranfällung wieder in Lösung gebracht werden: er ist mit Ammonsulfat etwa bei ähnlicher

Salzconcentration wie Globulin aussalzbar, ist nicht diffusibel und gibt nicht die für die Eiweisskörper charakteristischen Reactionen, wenigstens nicht in einer Concentration, bei der Salicylaldehyd noch sehr deutlich oxydirt wird.

Danach gewinnt man den Eindruck, dass die Aldehydase eine Colloidsubstanz, aber kein Eiweisskörper ist. Dieses Resultat widerspricht der immer wiederkehrenden Angabe, dass überhaupt Fermente und nach Art von Fermenten wirkende Substanzen Eiweisskörper oder Nucleoproteide darstellen. Doch ist dieser Widerspruch wohl nur ein scheinbarer. Denn es sind bereits mehrfach Fermente oder doch sehr wirksame Fermentlösungen dargestellt worden, welche keine Eiweissreactionen mehr boten. Es sei in der Richtung auf die Isolirung des Speichelfermentes, des Pepsins und des Labfermentes durch Hammarsten¹⁾ und Sundberg²⁾ hingewiesen. Wenn zum Beispiel Sundberg sein Pepsin, das keine Eiweissreactionen gab, stark wirksam fand, so ist es minder gezwungen, anzunehmen, dass Pepsin kein Eiweisskörper ist, als dass die Fermentwirkung als eine besonders feine Reaction dieses Fermenteiweisskörpers anzusehen ist.

Nach Erfahrungen im hiesigen Laboratorium gelingt es auch, hochwirksames Trypsin durch Selbstverdauung von Pankreas zu erhalten, das keine Biuretreaction mehr gibt.

Bei den als Eiweisskörpern beschriebenen Fermenten ist nicht auszuschliessen, dass sie durch Eiweissstoffe verunreinigt waren.

Es ist daran zu erinnern, dass nur unter besonderen Bedingungen die Trennung der Fermente von den Eiweisskörpern sich ermöglichen lässt, da sie durch verschiedene Fällungsmittel ebenso gefällt werden, wie die Eiweisskörper. Diese Eigenschaft theilen sie aber mit anderen bekannten Körpern, die in ihrer Constitution durchaus von den Eiweisskörpern verschieden sind.

Endlich kennt man eine Anzahl verhältnissmässig ein-

1) Lehrbuch der physiol. Chemie.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, 1885.

facher chemischer Substanzen, welche genau die gleichen Wirkungen wie Fermente entfalten. Speciell von zwei in die Gruppe der Oxydasen zu rechnenden Fermenten wissen wir, dass gleiche Wirkungen auch durch viel einfachere Körper erzielt werden. So konnte Pohl¹⁾ die oxydative Synthese des Indophenols mit Amygdalin, Schaer²⁾ die Bläuung des Guajaks durch Chinon erzielen. Wären derartige Beobachtungen, denen sich auf chemischem Gebiete noch viele an die Seite stellen lassen, bereits früher bekannt gewesen, so würde man bei der chemischen Charakterisirung der Fermente kaum immer in erster Linie an Eiweisskörper gedacht haben.

Dass der colloidale Zustand der Fermente wesentlicher für ihre Wirkung ist als eine constitutionelle Uebereinstimmung mit Eiweisskörpern, dafür sprechen Untersuchungen von Bredig und Müller von Berneck.³⁾ Sie fanden, dass colloidales Platin sehr viel intensiver Wasserstoffsuperoxyd zersetzt als Platinschwamm und sich sehr ähnlich den Fermenten verhält (Blausäureeinwirkung, Einwirkung von Säuren und Alkalien etc.)

Fasst man überhaupt die Fermentwirkungen als katalytische Reactionen auf, so besteht nicht der geringste Grund, in den Fermenten gerade Eiweissstoffe zu vermuthen. Sie können vielmehr den verschiedensten chemischen Gebieten angehören. Sollte sich für bestimmte Fermente mit zwingenden Gründen die Eiweissnatur darthun lassen, so ist noch immer kein Analogieschluss auf andere Fermente gestattet. Jedenfalls darf man verlangen, dass der Beweis für die Eiweissnatur eines Fermentes mit ebenso guten Gründen belegt werden kann, wie bei der Identificirung irgend eines chemischen Körpers — eine Forderung, der die bisherigen Angaben sehr unvollkommen entsprechen.

1) Arch. f. experim. Path. Bd. 38.

2) Zeitschr. f. Biologie Bd. 37, 1899 (Schaer weist darauf hin, dass er diese Beobachtung bereits 1867 gemacht hat, und ebenfalls 1867 habe Schönbein diesen Befund bestätigt).

3) Zeitschr. f. physikal. Chemie, Bd. 31, 1899.

III. Ueber die Verschiedenheit der einzelnen Oxydationsfermente.

Auf die zuerst von Pohl¹⁾ gefundene, von Spitzer²⁾ bestrittene Verschiedenheit der einzelnen oxydirenden Fermente soll in dieser Arbeit nicht näher eingegangen werden. Auch die neueren Beobachtungen anderer Autoren, wie eigene Befunde führen dazu, die bisher beschriebenen Oxydationsfermente als nicht identisch anzusehen.

Aus der Litteratur erwähne ich die Beobachtungen von Abelous und Biarnès,³⁾ welche ihre Globulinoxydase nur in der Milz, im Blut und im Fibrin fanden, nicht aber in der Leber, auch wurde Salicylaldehyd durch ihr Ferment nicht oxydirt. Raudnitz⁴⁾ stellte fest, dass die Milchfermente bei verschiedener Salzeconcentration ausgesalzen werden, und dass die katalytische und guajakbläuende Wirkung der Milch nicht mit der oxydativen Indophenolsynthese identisch ist.

Wiederholt habe ich gefunden, dass die Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds nicht mit der Wirkung der Aldehydase identificirt werden kann. Insbesondere wurde die Wasserstoffsuperoxydreaction trotz ihrer viel grösseren Verbreitung mehrfach in Aldehydaselösungen vermisst.

Ferner konnte ich Pohl's Angabe, dass sich in der Hundeleber die fermentative Indophenolbildung nicht regelmässig nachweisen lässt, durchaus bestätigen. Es gelang mir wenigstens nie, auch nicht in völlig ausgebluteten Lebern (z. B. wurde die oben für den Diffusionsversuch benutzte Leber daraufhin geprüft), eine Beschleunigung der spontanen Indophenolbildung aus seinen Componenten durch Lebersaft oder Leberbrei zu erzielen. Störung durch zu starke Eigenfärbung der Leber konnte ausgeschlossen werden, da auch mit sehr farbstoffarmen Leberlösungen gearbeitet wurde. Ich sah vielmehr regelmässig eine deutliche Verzögerung der Reaction gegenüber dem Kontrollversuch.

1) Arch. f. experim. Path., Bd. 38.

2) Pflüger's Arch., Bd. 67.

3) Arch. de physiolog. 1898.

4) Centralbl. f. Physiol. 1899.

IV. Fermentnatur der Aldehydase.

Obgleich seit Jaquet-Schmiedeberg die oxydativen Agentien des Organismus zumeist als Fermente aufgefasst werden, so fehlt doch noch der eigentlich ausschlaggebende Beweis für die Fermentnatur der Aldehydase. Es kommt darauf an, ob der oxydirende Körper allmählich unbegrenzte Mengen Aldehyd unter geeigneten Bedingungen in Säure überführen kann, ohne selbst bei der Reaction verbraucht zu werden. Der einzige in dieser Richtung von Pohl mit Formaldehyd angestellte Versuch fiel negativ aus. Solange dieser Punkt nicht aufgeklärt ist, fehlt eigentlich die Berechtigung, von einem oxydativen Ferment zu sprechen.

Auf Grund neuer Erfahrungen lässt sich diese Unsicherheit beseitigen. Es wurden zwei einschlägige Versuche, beide mit positivem Ergebniss, angestellt.

Versuch: Eine in der oben beschriebenen Weise durch fractionirte Salzfallung hergestellte Fermentlösung wird bei ganz schwach alkalischer Reaction mit etwas Salicylaldehyd und Toluol 5 Mal 24 Stunden bei ca. 38° digerirt.

In einer Portion der Digestionsflüssigkeit wird Salicylsäure nachgewiesen, der Rest wird 48 Stunden gegen fliessendes Wasser dialysirt, bis ein Theil davon keine Spur von Salicylsäure mehr erkennen lässt. Der verbleibende Rest wird mit Salicylaldehyd wie im Anfang digerirt, es wird wieder eine erhebliche Quantität Salicylsäure gefunden.

Versuch: Ein klarer Leberauszug wird wie im vorigen Versuch 48 Stunden digerirt; in einer kleinen Portion wird dann reichlich Salicylsäure nachgewiesen. Die Hauptmenge wird 3 Tage gegen fliessendes Wasser dialysirt, der Schlauchinhalt mit Ammonsulfat ausgesalzen, der Niederschlag in Wasser aufgenommen. Zwei Drittel hiervon werden, nachdem im Rest keine Salicylsäure nachgewiesen werden konnte, 72 Stunden wie oben mit Salicylaldehyd digerirt. Es wird neuerlich reichlich Salicylsäure gefunden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass die Aldehydase bei ihrer oxydativen Wirkung nicht verbraucht wird, somit in der That dem Begriff eines Fermentes entspricht. Der einzige Einwand, der noch möglich wäre, das Ferment wäre zum Theil bei der Reaction verbraucht worden, ein Rest aber übrig geblieben, wird dadurch hinfällig, dass die Menge der gebildeten Salicylsäure dort, wo ich mit reiner Fermentlösung

arbeitete, jedenfalls viel grösser war als das Trockengewicht der benutzten Fermentlösung, wobei noch zu berücksichtigen ist, dass dem Ferment als colloidem Körper ein viel höheres Molekulargewicht zugeschrieben werden muss.

V. Das reichliche Vorkommen einer Aldehydase in der Rinde der Nebenniere.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen, auf die ich in einer späteren Mittheilung zurückkomme, habe ich geprüft, ob die Nebenniere des Rindes eine Aldehydase enthält. Es ergab sich, dass die Rinde sehr intensiv schon in kleinen Quantitäten Salicylaldehyd oxydirt, das Nebennierenmark nur ganz geringfügig. Da es leicht gelingt, die Rinde vom Mark zu befreien, aber es kaum möglich ist, das Mark ganz rindenfrei zu präpariren, so ist es wahrscheinlich, dass auch die Spuren Aldehydase, die sich im Mark nachweisen liessen, der Rinde angehören.

Gekochte Nebennieren waren wirkungslos, ebenso die reducirende, blutdrucksteigernde Substanz des Markes, das von den Höchster Farbwerken nach v. Fürth's Angaben hergestellte Suprarenin.
