

wurde der Aschengehalt bestimmt und in Abzug gebracht, ebenso vom Saponin.

1. 2,3687 g Saponin gaben 0,8900 g Sapogenin = 37,57 %, 1,6362 g Zucker = 69,08 %.

2. 1,0094 g Saponin gaben 0,3640 g Sapogenin = 36,06 %, 0,6885 g Zucker = 68,21 %.

### **Zusammenfassung:**

1. Die Zusammensetzung des Gypsophila-Saponins entspricht nicht den geltenden Angaben. Wahrscheinlich ist es ein Gemenge zweier Homologen  $C_{18}H_{28}O_{10}$  und  $C_{19}H_{30}O_{10}$ .

2. Die Rochleder'sche Spaltungsformel ist unrichtig. Bei der Spaltung entstehen zu ungefähr gleichen Teilen Sapogenin, eine Arabinose und noch ein anderer Zucker.

Die Untersuchung wird fortgesetzt.

---

**Arbeiten aus dem pharmazeutischen Institut der  
Universität Bern.**

## **Untersuchungen über die Sekrete.**

### **74. Ueber den Japanlack (Ki-urushi).**

Von A. Tschirch und A. B. Stevens.

(Eingegangen den 29. IX. 1905.)

Von allen Sekreten der Pflanzen ist der natürliche japanische Lack bei weitem das merkwürdigste und ohne jedes Analogon. Er erhärtet von selbst und zwar am besten bei einer 20° nicht übersteigenden also relativ niedrigen Temperatur in einer feuchten Atmosphäre zu einem allen Reagentien widerstehenden glasartigen Ueberzuge. Er enthält einen Harzkörper, der beim Aufstreichen durch ein Enzym oxydiert wird und ein Gift, das höchst eigenartige Erkrankungen hervorbringt. Kein künstlicher Lack, wie man die alkoholischen und sonstigen Lösungen von Harzen nennen kann, kommt diesem Naturlack gleich, ja auch nur nahe. Die wundervollen japanischen Lackarbeiten sind nur mit diesem merkwürdigen Sekrete herzustellen.

Die Lackierkunst und wahrscheinlich auch den Lackbaum lernten die Japaner erst im Anfang des dritten Jahrhunderts, d. h. nach ihrem ersten Kriegszuge gegen Korea von ihren westlichen Nachbarn kennen,

aber erst in der Mitte des siebenten Jahrhunderts gewann die Lackindustrie in Japan größere Bedeutung. Ihre Glanzzeit fällt in das XVII. Jahrhundert. Aber noch jetzt leben in Japan Lackkünstler, die auf den Weltausstellungen alle Besucher durch ihre herrlichen Arbeiten entzücken.

Auf die Einzelheiten der Lackgewinnung und Lackverarbeitung soll hier nicht eingegangen werden. Es sei auf die Literatur verwiesen<sup>1)</sup>, besonders auf Rein und Wagener. Die ersten Mitteilungen rühren von Kämpfer (1712) und dem Jesuitenpater d'Incarville (1760) her.

Die Vorzüge des Japanlackes sind: große Härte ohne Sprödigkeit zu zeigen oder rissig zu werden (er übertrifft hierin alle anderen Lacke), ein die Jahrhunderte überdauernder Hochglanz und endlich eine ganz ungewöhnliche Widerstandsfähigkeit gegen die meisten Agentien wie siedendes Wasser, Alkohol, Aether, Alkalien, Säuren, Salzlösungen. Nur heiße konzentrierte Salpetersäure greift den Lack an. Die echten japanischen Lackwaren (Nuri-mono oder Urushi-saiku) übertreffen daher alle anderen und sind leicht von den europäischen Nachahmungen zu unterscheiden.

Der Japanlack ist der Milchsaff des Lackbaumes, *Rhus vernicifera* DC., *Urushi-no-ki*, der in China, Japan und Vorderindien wild wächst und in China und Japan kultiviert wird<sup>2)</sup>. Nach

<sup>1)</sup> E. Kämpfer, *Amoenitatum exoticarum politico-physico medicarum fasciculi V*, Lemgoviae 1712. *Mémoire sur le Vernis de la Chine*. P. d'Incarville, *Mém. de l'acad. roy. des sc.* III, 1760, p. 117; davon eine freie deutsche Uebersetzung in *Neuer Schauplatz der Künste und Handwerke*, Illmenau 1824. G. Wagener, *Japanischer Lack*, *Dinglers Polytechn. Journ.* 1875, 218. Rein, *Das japan. Kunstgewerbe*, *Oest. Monatsschr. f. d. Orient* 1882, und *Japan, nach Reisen und Studien*, 1886. Quin, *Rep. by Her Majestys Acting consulate Hakodate on the lacquer industry of Japan*, London 1882. *Mon. du Dr. scientif.* Quesneville 1883, p. 1042. Dumoutier, *La laque et les huiles à laquer Hanoï*, 1892. Maëda, *Les laques du Japon*, *Rev. scientif.* 2. Ser., VII, 1878. Dresser in *Watt, Diction. of econom. prod. of India VI*, p. 501.

<sup>2)</sup> Abbildung und Beschreibung in dem schönen Atlas, den einer meiner Schüler, der japanische Forstrat Homi Shirasawa im Auftrage der japanischen Regierung für die Weltausstellung in Paris (1900) herausgegeben hat, und der den Titel trägt: *Iconographie des Essences forestières du Japon*. Paris, Brunoff. 1900. Aber schon Kämpfers *Amoenitates*, (1712), enthalten auf S. 792 eine recht gute Abbildung; ferner Möbius, *Der japanische Lackbaum*, *Abhandl. d. Senckenberg. Naturforsch.-Ges.* XX, Heft 2, Frankf. 1899. (Dort die weitere botanische Literatur.) Vergl. auch *Diction. of econom. products of India VI*, 500.

J. D. Hooker<sup>1)</sup> soll jedoch der chinesische Lackbaum nicht mit dem japanischen identisch sein. Vielleicht handelt es sich nur um Kulturvariation, denn es scheint, daß der Lackbaum von China, seiner ursprünglichen Heimat nach Japan eingeführt wurde und dort z. T. verwilderte. Er gedeiht zwar in ganz Japan, ist jedoch in den südlichen Distrikten seltener. Die größten Kulturen liegen im nördlichen Hondo, z. B. im Tal des Tadami-gawa, im westlichen Aidzu, bei Yonezawa und Mogami, in Uzen, sowie im nördlichen Echigo und in den Provinzen Echizen (Ochiyama), Ugo und Mutsu, besonders geschätzt ist der Lack von Yoshino in Yamato. Eine Karte in Rein's Japan veranschaulicht die Verbreitung dieser Kulturen.

Die Gewinnung des Lackes<sup>2)</sup> erfolgt in der Weise, daß man die Stämme in horizontaler Richtung anritzt. Da der Milchsaft sich in zahlreichen rindenständigen, schizogenen Milchsaftkanälen befindet<sup>3)</sup>, tritt er beim Anritzen in großen, zähen Tropfen aus. Man kann das Anritzen während des ganzen Sommers vom April bis Oktober vornehmen, das im Frühjahr gesammelte Produkt ist aber dünnflüssiger als das im Herbst gesammelte, das beste ist das im Hochsommer gewonnene. Die Lackgewinnung beginnt, wenn die Bäume 9—10 Jahre alt sind, seltener früher (im 4.—5. Jahre). Die Lackzapfer (Urushi-shökunin) bedienen sich zum Anritzen der messerscharfen Ritzsichel (Kaki-gama), einer hakenförmig gekrümmten Eisenplatte, und zum Auskratzen der Einschnitte eines flachen eisernen Löffels mit kurzer, umgebogener Spitze (Natsu-bera). Der ausgekrazte Saft wird alsdann in ein Eimerchen (Gô) oder in Bambusröhren gestrichen. Aeltere Bäume mit rissiger Rinde werden erst mit dem Rindenschäler (Kawamuki) geglättet. Auch eines geraden Messers (Hôchô) und eines Hohlmeißels (Ye-guri) bedient sich der Lackzapfer bisweilen. Die Hände werden durch Fausthandschuhe (Te-bukuro) geschützt.

Jedem Lackzapfer werden 600—1000 Bäume überwiesen. Sie beschäftigen ihn den Sommer über. Nachdem er den Baum gereinigt

<sup>1)</sup> Rep. on the progr. and condit. of the Royal gard. Kew. 1880.

<sup>2)</sup> Ich folge hier im allgemeinen den Angaben Reins. Kämpfer (Amoenitates p. 793) berichtet über die Gewinnung: „Collectio Urusi, sive vernicis, ut instituatur, caudices praecipue triennes, paucis crenis vulnerandi sunt, ex quibus stillans liquor subinde excipitur, iterata in recenti loco sectione, donec exsucci marcescant. Emulsi atque omni succo orbat, illico amputandi sunt; sic nova e radice provenit soboles, quae triennis facta, collectione denuo subjicitur. Colitur frequens in provinciis Tsi Korko et Figo in quibus inserti agris scaprai dices agunt et caudices edunt post triennium Vernicem subpeditantes“.

<sup>3)</sup> Die anatomischen Verhältnisse sind ausführlich geschildert von Möbius a. a. O.

hat, macht er mit der Ritzsichel am unteren Ende des Stammes einen 2 mm breiten bogenförmigen Ritz, durchführt den Gürtelschnitt mit dem rückwärts angebrachten Haken der Ritzsichel, um hineingefallene Rindenstückchen zu beseitigen und macht dann 15–20 cm höher, aber auf der entgegengesetzten Seite des Baumes einen zweiten Einschnitt, kehrt zur zuerst geritzten Seite zurück, macht dort 15–20 cm höher einen dritten Einschnitt und so fort abwechselnd rasch hintereinander, bald auf dieser, bald auf jener Seite so hoch der Arbeiter reichen kann, bis etwa 6–10 Einschnitte gemacht sind. Sind 10–15 Bäume geritzt, so kehrt der Arbeiter zum ersten zurück und kratzt nun die Wunde aus. Dann begibt er sich zu einer neuen Gruppe von Bäumen, um diese zu ritzen. Nach 4 Tagen etwa kehrt er zu den zuerst geritzten zurück und macht nun 2 mm tiefer, parallel zu den alten, neue Einschnitte u. s. f. Schließlich liegen 15–20 Einschnitte übereinander. Das so gewonnene dickflüssige, graugelbe Produkt ist der Stammlack oder Ki-urushi. Der beste ist der an der Basis der Bäume in der heißesten Jahreszeit gesammelte. Ein schlechteres, nur zum Grundieren benutztes, körnig breiiges Produkt, der Astlack, Seshime oder Shime-urushi, wird dadurch gewonnen, daß man nach dem Laubfall die Aeste abhaut, in warmes Wasser stellt und die aus dem Wasser hervorragenden Stellen anschneidet. Dieser „gemmage à mort“ fällt natürlich der Baum zum Opfer.

Im günstigsten Falle, d. h. wenn man den Baum opfert, erhält man 25–55 g Rohlack von einem Baume.

Die Verpackung des Ki-urushi erfolgt stets in ca. 18–30 kg fassenden Holzern, Kübeln (Taru), die dadurch fest verschlossen werden, daß man zwischen Lack und Deckel starkes geöltes Papier legt. So gegen Luft, Licht und Staub geschützt, hält sich Ki-urushi lange Zeit unverändert.

Für gewöhnlich wird Ki-urushi, um ihn von fremden Beimengungen, Holz- und Rindenstücken zu befreien, durch Baumwollstoff gepreßt, also koliert. So gereinigter Rohlack heißt alsdann Ki-shô-mi. Wird er alsdann noch, um die Körner zu zerteilen, durch Reiben in einem flachen Holzkübel in einen gleichartigen Brei verwandelt und nochmals koliert, so nennt man ihn Seshime (durch Baumwolle gepreßt: Wasa-goshi-Seshime, durch Baumwollzeug gepreßt: Men-goshi-Seshime, durch Hanfleinwand gepreßt: Nuno-goshi-Seshime), für die Verwendung wird er übrigens noch meist an der Sonne oder an gelindem Feuer von einem Teile des Wassers befreit. Er heißt dann Kurome-urushi. Yoshida berichtet, daß Ki-urushi oft mit 40% Mokuyiki (=Holzsaft) vermischt werde, welcher viel gummireicher und wahrscheinlich ein unreiner Urushi ist. Eine regelmäßige

Vermischung mit dem Oele der Früchte des Kiribaumes, von der Kämpfer spricht, erfolgt jetzt nicht mehr.

Durch mannigfache Zusätze von Oel (besonders Leinöl), feingemahlten Farbstoffen (Indigo, Zinnober, Auropigment, Bleiweiß), Eisensalzen, Kohle (Ruß), Gold und Silber erhält man dann alle die zahlreichen Sorten Lack, die die Lackierer zur Herstellung ihrer kunstvollen Arbeiten verwenden. Die Eigenartigkeit der japanischen Lackarbeiten beruht besonders darauf, daß stets mehrere Anstriche übereinander, nachdem der vorige trocken war, aufgetragen werden, die der Grundierung folgenden eigentlichen Lackanstriche in einer feuchten Atmosphäre gegen Staub geschützt trocknen, und dann nach jedem neuen Anstrich die Fläche (mit Polierstein, Kohle oder gebranntem Hirschhorn) poliert wird.

Die Einzelheiten kann man bei Rein nachlesen, der sich auch über die eigentliche Arbeit des Lackierens auf Grund eigener Anschauung ausführlich verbreitet. Doch dies gehört nicht mehr hierher.

Der Lackbaum wird auch von den Annamiten zur Gewinnung von Japanlack benutzt<sup>1)</sup>. Das Produkt trägt dort den Namen so'n-mat-dâu.

Ueber die Kultur des Lackbaumes in Indien berichtet Watt<sup>2)</sup>, über die in Oran Leroy<sup>3)</sup>.

Daß er auch in Deutschland gut gedeiht, ist seit den gelungenen Kulturversuchen im botanischen Garten in Frankfurt a. M.<sup>4)</sup> bekannt. Er wird auch anderwärts kultiviert<sup>5)</sup>.

Der Jesuitenpater d'Incarville erkannte bereits 1760<sup>6)</sup>, daß der Lack ein natürliches Gummi oder Harz sei, das aus dem Lackbaum ausfließt und nicht eine künstliche Komposition ist. Ihm war es auch schon bekannt, daß der Lack am besten erhärtet, wenn er feucht gehalten wird. Der Bildung einer dunkeln Haut beim Stehen des Lackes tut bereits Kämpfer Erwähnung.

Der erste, welcher den japanischen Lack untersuchte war Sadama Ishimatsu<sup>7)</sup>.

Ishimatsu untersuchte in Tokio von einem großen Lackhändler erhaltenes Urushi. Er fand darin eine flüchtige, giftige Säure. Er beschreibt

1) Bertrand's Untersuchungsmaterial stammte aus Tonkin.

2) Dict. of econom. prod. of India VI, p. 501.

3) Ass. franç. p. l'avanc. des sc. 1888.

4) Geyler, Abh. d. Senckenberg. Naturf.-Ges. 1881. Möbius, Der japan. Lackbaum, 1899 u. a.

5) Monatsschr. d. Ver. z. Bef. d. Gartenb. 1880, Gartenflora 1881 und Kultur des Lackbaumes in Europa, Helios 1893, X, 27 u. a.

6) Siehe oben Anm.

7) On a chemical investigation of Japanese laquer or Urushi. Mem. of the Manchester literary and philosophical Soc. 3 Ser. 7 (1882), pag. 249. (Read Febr. 18th. 1879.)

die Lackkrankheit und bemerkt, daß Bleiacetat, Chlorkalium und Soda sich bei der Behandlung bewährt habe. Er meint, daß eine Idiosynkrasie für die Krankheit bestehe.

Er fand Ki-urushi größtenteils löslich in Aether, Alkohol, Benzol, der Rückstand enthält Gummi. Der Verlust beim Eintrocknen betrug 25–35%. Es entweicht Wasser und Kohlensäure und der Lack wird schwarz. Das Schwarzwerden findet nicht statt, wenn der Lack in einer Kohlensäureatmosphäre dem Licht ausgesetzt wird. Ishimatsu gibt eine (wie wir jetzt wissen unzutreffende) Erklärung für das Trocknen des Lacks in feuchter Atmosphäre. Er meint, daß in trockener Luft eine Kruste entstände, die die tieferen Schichten vor dem Trocknen schütze.

Mit Wasser destilliert lieferte Ki-urushi ein saures Destillat. Er mischt sich mit fetten Oelen in allen Verhältnissen.

Ishimatsu erhielt:

|   |       |        |
|---|-------|--------|
| In absolutem Alkohol löslich              | 58,24 | 58,23  |
| Gummi . . . . .                           | 6,34  | 6,30   |
| Rückstand (Rinde, Staub etc.)             | 2,24  | 2,30   |
| H <sub>2</sub> O und flüchtige Substanz . | 33,18 | 33,17. |

Er zog den Lack mit Alkohol aus, dampfte die Lösung ein und trocknete bei 100°. Der Rückstand wurde mit heißem Wasser behandelt, die Lösung filtriert und eingedampft. Der unlösliche Rückstand wurde auf einem Filter gesammelt und gewogen.

Vollkommen bei 100° getrockneter Lack gab folgende Zahlen:

|                            |         |
|----------------------------|---------|
| Löslich in Alkohol . . . . | 18,07%  |
| Gummi . . . . .            | 3,63 „  |
| Rückstand . . . . .        | 78,30 „ |

Er schließt hieraus merkwürdigerweise nicht, daß sich der Lack beim Trocknen verändert, sondern nur, daß die Lösungsmittel schwieriger eindringen.

Von dem Gummi erhielt er folgende Analysenzahlen:

|     |       |       |
|-----|-------|-------|
| C = | 41,20 | 41,43 |
| H = | 6,51  | 6,58. |

Der alkohollösliche Teil bildet die Hauptmasse. Er ist bräunlich-schwarz, klebrig. Mit Kalihydrat bildet er ein bläulich-schwarzes Präzipitat. Durch Kochen mit HCl entsteht eine elastische Masse, wie geschmolzener Schwefel. Mit HNO<sub>3</sub> wird die Substanz orangegelb. Diese Masse mit H<sub>2</sub>O gewaschen und mit absolutem Alkohol behandelt gab eine Lösung und einen geringen Rückstand. Die alkoholische Lösung gibt mit Bleiacetat eine gelbe Fällung, die mit Alkohol gewaschen und mit Schwefelsäure zerlegt wurde. Die abgeschiedene Säure wurde wieder mit Bleiacetat gefällt und das Bleisalz getrocknet. (Es explodiert beim Erhitzen!)

Es gab folgende Zahlen (N nach Dumas bestimmt):

|                 |   |       | Mittel |
|-----------------|---|-------|--------|
| C               | = | 26,77 | 27,10  |
| H               | = | 4,10  | 4,12   |
| NO <sub>2</sub> | = | 18,60 | 18,28  |
| PbO             | = | 47,41 | 47,43  |
| O               | = | 3,12  | 3,07   |
|                 |   |       | 3,10.  |

Er berechnet daraus die Formel  $C_{11}H_{20}(NO_2)_2PbO_3$ , und für den ursprünglichen Körper  $C_{11}H_{24}O_2$ . Das Silbersalz enthielt 18,5% Ag.

Ishimatsu fällt dann auch den ursprünglichen alkoholischen Auszug des Lacks mit Bleiacetat und erhielt eine Fällung, die, bei 100° getrocknet, folgende Zahlen lieferte:

|     |         |       | Mittel |
|-----|---------|-------|--------|
| C   | = 49,84 | 51,06 | 50,45  |
| H   | = 5,81  | 5,60  | 5,705  |
| O   | = 40,30 | 39,84 | 40,07  |
| PbO | = 3,50  | 4,05  | 3,775. |

Daraus berechnet er die Formel:  $C_{20}H_{30}O_2$ .

Die umfangreichste Untersuchung verdanken wir aber Hikorokuro Yoshida, der 1883 mit Korschelt den Lack untersuchte<sup>1)</sup>.

Yoshida verwendete die gleiche Methode wie Ishimatsu. Er extrahierte gereinigten Ki-urushi, d. h. Ki-shô-mi (s. oben), mit absolutem Alkohol, dampfte die Lösung zur Trockne und erhitze den Rückstand auf 105–110°. Auf diese Weise erhielt er die Urushinsäure oder Lacksäure. Sie ist zu 60–80% im Ki-shô-mi enthalten. Der beste Lack von Yoshino enthält sogar 85%. Mit Mokuyiki vermischter Lack ist ärmer an Urushinsäure. Den in Alkohol unlöslichen Rückstand kochte er mit Wasser aus, dampfte die Lösung ein und trocknete bis zu konstantem Gewicht. Diesen Rückstand nennt er „Gummi“. Das Zurückbleibende, weder in Alkohol noch in Wasser lösliche („Residue“) enthält nach Yoshida die diastatische Substanz, Cellulose und unlöslichen Farbstoff. Es wurde getrocknet und gewogen.

Die von Ishimatsu und Yoshida erhaltenen Zahlen gruppieren sich folgendermaßen:

|                                  | Yoshino<br>Prov. Yamato | Hottamura<br>Prov. Hidachi | Südliches<br>Sagami | Nördliches<br>Echigo | Hachioji<br>Prov. Sagami | Provenienz<br>unbekannt |                |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---------------------|----------------------|--------------------------|-------------------------|----------------|
|                                  |                         |                            |                     |                      |                          | in Tokio<br>gekauft     | wohl<br>unrein |
| Urushinsäure (Lacksäure) . . .   | 85,15                   | 61,62                      | 68,83               | 66,92                | 80,0                     | 64,07                   | 58,24          |
| Gummi . . . . .                  | 3,15                    | 5,56                       | 5,02                | 4,75                 | 4,69                     | 6,05                    | 6,32           |
| Rückstand (N-halt. Subst.) . . . | 2,28                    | 2,10                       | 2,01                | 1,72                 | 3,31                     | 3,43                    | 2,27           |
| Oel . . . . .                    | ?                       | 0,09                       | 0,06                | 0,06                 | ?                        | 0,23                    | ?              |
| H <sub>2</sub> O . . . . .       | 9,42                    | 27,63                      | 24,08               | 26,55                | 12,0                     | 26,22                   | 33,17          |

Das Oel kam dadurch in den Lack, daß man Ritzmesser und Spatel mit E-no-abura (Oel der Perilla) bestrich, damit der Lack an dem Eisen nicht haften blieb.

<sup>1)</sup> H. Yoshida, on Urushi-lacquer, Journ. Chem. Soc. 1883, p. 472. O. Korschelt und H. Yoshida, the chemistry of japanese lacquer, Transact. As. Soc. Japan. XII, p. 182. (Ref. in Journ. pharm. chim. IX, 320. Jahresb. d. Chem. 1883, S. 1768.)

Der Wassergehalt wechselt je nach der Provenienz, ob der Lack-Saft von Stämmen oder Aesten, im Frühjahr, Sommer oder Herbst gesammelt wurde.

Die untersuchten Proben waren grau-lohbraun, sehr klebrig und besaßen ein spezifisches Gewicht von 1,002. Sie besaßen einen eigenartigen süßlichen Geruch.

Ki-urushi nimmt Wasser auf und verdickt sich hierbei (Rein). Ein von den Japanern viel verwendetes Verdünnungsmittel ist auch der Kampfer.

Der Hauptbestandteil des Japanlackes ist also die alkohollösliche Urushinsäure. Außer dieser tritt aber auch der giftige Körper in den Alkohol über. Nach Yoshida soll derselbe aber durch Trocknen bei 100–110° fortzubringen sein. Alle Autoren, auch Rein, halten das Gift für eine flüchtige Substanz.

Die Urushinsäure, die Yoshida nicht weiter erhitze, sondern nur bei 110° trocknete, lieferte ihm folgende Analysenzahlen:

| Gefunden: |       |       | Berechnet für       |                     |
|-----------|-------|-------|---------------------|---------------------|
| Mittel    |       |       | $C_{14}H_{18}O_2$ : | $C_{14}H_{19}O_2$ : |
| C = 77,09 | 77,01 | 77,05 | 77,06               | 76,71               |
| H = 9,28  | 8,75  | 9,01  | 8,28                | 8,67.               |

Mit den meisten Metallsalzen (nicht mit Hg, Zn, Ni, Co, Mn, Erdalkalien) gibt die Lösung der Urushinsäure Fällungen. Die mit Bleiacetat erhaltene Bleifällung lieferte folgende Zahlen:

|            |  | Berechnet für $(C_{14}H_{17}O_2)_2Pb$ : |
|------------|--|---|
| C = 52,08  |  | 52,40                                   |
| H = 5,34   |  | 5,30                                    |
| Pb = 32,45 |  | 32,29.                                  |

Durch  $FeCl_3$  wurden zwei verschiedene Niederschläge erhalten. Der mit wenig  $FeCl_3$  erhaltene lieferte folgende Zahlen:

|           |       |  | Berechnet für $(C_{14}H_{17}O_2)_3Fe \cdot 9C_{14}H_{18}O_2 \cdot 2H_2O$ : |
|-----------|-------|--|--|
| C = 74,42 | 74,40 |  | 74,53  |
| H = 8,18  | 8,13  |  | 8,03   |
| Fe = 2,07 | 2,07  |  | 2,08.  |

Der mit mehr  $FeCl_3$  erhaltene dagegen:

|           |  | Berechnet für $(C_{14}H_{17}O_2)_3Fe \cdot 3C_{14}H_{18}O_2$ : |
|-----------|--|--|
| C = 74,56 |  | 74,06  |
| H = 8,16  |  | 7,72   |
| Fe = 4,29 |  | 4,11.  |

Alkalien bilden dunkle, purpurblaue Salze, die sich in viel Aether und Benzol lösen, weniger in Wasser und Alkohol. Die Lösung des Alkalisalzes in Petroläther gibt einen sehr schönen Lack.

Brom liefert ein Bromid mit 69,37 % Br. Das Hexabromid  $C_{14}H_{12}Br_6O_2$  verlangt 69,36 % Br.

Die Destillation mit Kalk liefert neben sauerstoffhaltigen Körpern einen Kohlenwasserstoff der Formel  $C_{14}H_{24}$ .



Kocht man Urushinsäure mit Salzsäure, so schwillt sie zuerst schwammig auf und wird dann dicht und braun und in Alkohol unlöslich<sup>1)</sup>. Die Analyse zeigt aber die gleichen Zahlen, die bei Urushinsäure gefunden wurden, nämlich:

Gefunden für Urushinsäure:

|           |       |
|-----------|-------|
| C = 77,07 | 77,05 |
| H = 8,77  | 9,01. |

Yoshida hält den Körper für ein durch molekulare Transformation entstandenes Polymerisationsprodukt. Er nennt ihn  $\beta$ -Urushinsäure. Er entsteht auch, wenn man die Alkalisalze der Urushinsäure mit Salzsäure zerlegt.

Salpetersäure führt Urushinsäure in einen gelblichen Schwamm über, der nach dem Waschen mit Wasser an Alkohol einen Körper abgibt, der durch  $\text{FeCl}_3$  gefällt wird. Die Fällung hält Yoshida für das Eisensalz der Dinitrourushinsäure. Es lieferte folgende Analysenzahlen:

Berechnet für  $(\text{C}_{14}\text{H}_{15}(\text{NO}_2)_2\text{O}_2)_3\text{Fe}$ :

|                       |       |
|-----------------------|-------|
| C = 51,49             | 51,59 |
| H = 4,82              | 4,61  |
| $\text{NO}_2 = 28,16$ | 28,25 |
| Fe = 9,77             | 9,81. |

Die Dinotrourushinsäure ist glänzend gelb, leicht löslich in den gewöhnlichen Lösungsmitteln.

Die giftige Substanz hält Yoshida für flüchtig und behauptet, daß sie mit Wasser übergehe.

Das Gummi erhielt Yoshida durch Ausziehen des Lacks mit kochendem Wasser und Eindampfen der filtrierten Lösung als farblose, brüchige Masse. Die durch Analyse ermittelte Zusammensetzung dieser Masse näherte sich der Arabinsäure.

|           |   |
|-----------|---|
| Gefunden: | Berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ : |
| C = 42,47 | 42,11   |
| H = 6,40  | 6,43.   |

Sie enthielt aber reichlich Asche, in der sich fand 0,48% Si, 7,85 Al, 44,77 Ca, 5,79 Mg, 13,68 K, 1,33 Na. Yoshida faßt das Gummi als ein K-Ca-Mg und Al-Salz der Arabinsäure auf.

Die Gummilösung reduziert nach der Inversion Fehling'sche Lösung. Es entsteht Dextrose.

Das Trocknen des Lackes beruht auf der Einwirkung einer „diastatischen Substanz“ auf die Urushinsäure. Die diastatische Substanz soll zu 3–8% in dem Ki-urushi enthalten sein, durch Kochen angeblich koagulieren, jedenfalls nach dem Kochen nicht mehr diastatische Wirkung zeigen. Yoshida sagt nicht wie er sie rein dargestellt hat. Er teilt aber eine Analyse mit:

C = 63,44, H = 7,41, N = 4,01, Asche 1, 2.

Daß die mit Alkohol ausgezogene Urushinsäure die Eigenschaft anfeuchter Luft einzutrocknen nicht besitzt, beobachtete auch Rein (1874). Yoshida

<sup>1)</sup> Die Bemerkung Yoshidas, der Körper sei in den gleichen Lösungsmitteln löslich wie Urushinsäure, ist unrichtig.

hat dann durch zahlreiche Versuche gezeigt, daß das Trocknen des Lackes am besten bei einer Temperatur von 20–30° (also in warmer Sommertemperatur) in einer feuchten Atmosphäre bei Anwesenheit von Sauerstoff erfolgt. Schon bei 55–59° erfolgt das Trocknen erst nach 24 Stunden, über 60° überhaupt nicht, in trockener Luft, in trockenem O, H, CO<sub>2</sub>, N trocknet der Lack (bei 13–15°) nicht, am raschesten in einer Atmosphäre feuchten Sauerstoffes.

Die Lackierer trocknen am liebsten bei Regen im Sommer in mit feuchten Tüchern ausgeschlagenen Kästen oder Schränken.

Um die Einwirkung der „diastatischen Materie“ auf die Urushinsäure festzustellen hat Yoshida folgende Versuche angestellt. Er analysierte:

| In gewöhnlicher Weise erhärteten<br>Ki-urushi, bei 100° getrocknet |         |        | und   | vor dem Eintrocknen auf dem<br>Wasserbade<br>gekochten Ki-urushi |       |        |
|--|---------|--------|-------|--|-------|--------|
|  |         | Mittel |       |  |       | Mittel |
| C  | = 70,91 | 70,84  | 70,85 | 75,47  | 75,61 | 75,54  |
| H  | = 8,55  | 7,90   | 8,22  | 8,93   | 9,01  | 8,97   |
| N  | = —     | —      | 0,092 | —  | —     | 0,11   |
| Asche  | = —     | —      | 0,032 | —  | —     | 0,21   |
| O  | = —     | —      | 20,52 | —  | —     | 15,17. |

Er schließt aus diesen Analysen, daß der Lack beim normalen Erhärten Sauerstoff aufnimmt, und zwar jedes Molekül Urushinsäure ein Atom O, und daß aus der Urushinsäure = C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> eine Oxyurushinsäure = C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub> entsteht.

Yoshida hat dann diese Oxyurushinsäure durch Erhitzen der Urushinsäure mit Chromsäuremischung dargestellt. Das Produkt bildete nach dem Auswaschen mit Alkohol ein braunes Pulver, das folgende Analysenzahlen lieferte:

| Gefunden: |         |       | Mittel | Berechnet für C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> : |
|-----------|---------|-------|--------|--|
| C         | = 71,55 | 71,50 | 71,52  | 71,79  |
| H         | = 8,32  | 8,13  | 8,23   | 7,69   |
| O         | = —     | —     | 20,25  | 20,52.   |

Oxyurushinsäure ist sehr stabil, widersteht allen Reagentien und ist unlöslich in allen Lösungsmitteln.

In neuerer Zeit hat dann Bertrand<sup>1)</sup> den japanischen Lack untersucht, vornehmlich mit Rücksicht auf das in ihm enthaltene Enzym, das er Laccase nannte.

Bertrand fällt die wässrige Lösung mit Alkohol und nennt die Fällung Laccase. Er fällt die alkoholische Lösung mit Plumb. acetic. und zerlegt mit Schwefelsäure, das Produkt nennt er Laccol. Es ist ölig und nach seiner Auffassung „même à l'état de vapeur“ giftig. Es wird an der Luft braunrot und verharzt. Durch Alkalien wird es schwarz unter Sauerstoffabsorption. Eisenchlorid färbt erst grün und gibt dann einen schwarzen

<sup>1)</sup> Rech. sur la laccase, nouveau ferment soluble a propriétés oxydantes. Ann. chim. phys. VI ser. 12 (1897), p. 115. Rech. sur le latex de l'arbre à laque du Tonkin. Soc. chim. XI, 1894, p. 614 und 717.

Niederschlag. Es reagiert wie ein mehratomiges Phenol. Durch Laccase und Sauerstoff wird es schwarz.

Laccase ist weiß, amorph, sehr löslich in Wasser, auch löslich in Glycerin, unlöslich in starkem Alkohol. Bertrand's Laccase besteht fast ganz aus einem Gummi. (!) Sie färbt sich daher mit HCl und Orcin violett; gibt mit  $\text{HNO}_3$  Schleimsäure, bei der Hydrolyse mit verdünnter Säure Galaktose und Arabinose. Sie ist sehr hygroskopisch. Sie enthält Asche, reich an Mangan und enthält auch N. Mit Natronkalk erhitzt, liefert sie angeblich Ammoniak (= 0,44 % N). Es ist dem Gummi also sehr wenig Enzym (Laccase im engeren Sinne) beigemischt; wenn man die Zusammensetzung der Eiweißkörper bei der Berechnung zu Grunde legt etwa 2,5 %.

Bertrand's Laccase hatte folgende Zusammensetzung:

|  |       |
|--|-------|
| $\text{H}_2\text{O}$ (getrocknet bei $120^\circ$ ) . . . | 7,4   |
| Gummi (Araban und Galaktan) .                            | 84,95 |
| Laccase (N = 0,4 %) . . . . .                            | 2,5   |
| Asche . . . . .  | 5,17. |

Laccase wirkt nicht auf Stärke, Pektin, Saccharose, Amygdalin, Sinigrin, Fibrin. Dagegen führt sie Hydrochinon in Chinon und — unter  $\text{CO}_2$ -Abscheidung — Pyrogallol in Purpurogallin über und oxydiert, ebenfalls unter  $\text{CO}_2$ -Abscheidung, Gallussäure und Tannin. Ueberhaupt erweisen sich nur die Phenole mit wenigstens zwei Hydroxylen oder zwei  $\text{NH}_2$ -Gruppen in o- oder p-Stellung als durch Laccase + Sauerstoff oxydabel.

Laccase ist in vielen Pflanzen enthalten (in Dahliaknollen, Kartoffeln, Spargel, Gardenia, roten und gelben Rüben, Äpfeln, Birnen, Quitten, Kastanien, Luzerne, Klee, Pilzen, in vielen saftigen Früchten, in Blüten und Blattorganen)<sup>1)</sup>, besonders in den in lebhafter Entwicklung befindlichen Pflanzenteilen.

Eine besondere Bedeutung schreibt Bertrand dem Mangangehalte der Laccase zu<sup>2)</sup> — die Asche derselben enthält 2,5 % Mangan —, ja er glaubt, daß die Oxydationswirkung der Laccase von der Menge des in ihr enthaltenen Mangans abhängig ist und nur manganhaltige Laccase oxydierend wirke<sup>3)</sup>.

Darin, daß der Lack „schon durch seine Ausdünstung“ die Lackkrankheit hervorrufe, stimmen alle Autoren überein (vergl. weiter unten).

Die Ansicht, daß zur Oxydation der „Lacksäure“, d. h. zur Erhärtung und Braunschwarzfärbung des Lackes außer Laccase, Sauerstoff und Feuchtigkeit auch das Licht erforderlich sei, wie z. B. noch Rein behauptet, ist neuerdings wieder durch Versuche von Wiesner<sup>4)</sup> widerlegt worden; aber schon lange vorher (1879) hatte Ishimatsu das Irrige dieser Ansicht durch einwandfreie Versuche nachgewiesen<sup>5)</sup>.

<sup>1)</sup> Bourquelot et Bertrand, Les ferments oxydants dans les champignons. J. ph. 1896, 3, 97. Bertrand, Sur la recherche et la presence de la laccase dans les végétaux. C. r. 120, p. 266; 121, p. 166 (1895) u. a.

<sup>2)</sup> Bertrand, Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase. J. ph. 1897, 5, 545. Compt. rend. 124, 1032.

<sup>3)</sup> Die gleiche Rolle soll bei der Pectase das Calcium spielen.

<sup>4)</sup> Rohstoffe des Pflanzenreichs 1900, S. 299.

<sup>5)</sup> Mem. of the Manchester liter. and philos. Soc. 3. Ser. 7, p. 249.

Nach einer von Rein ausgeführten mikroskopischen Untersuchung des Lackes ließ derselbe neben wenigen farblosen, in Wasser löslichen Kügelchen zahlreiche kleinere und dunklere in Alkohol lösliche Kügelchen erkennen, eingebettet in eine amorphe bräunliche Masse. Wiesner fand in dem eingetrockneten Lack auch einige besonders mit dem Polarisationsmikroskop sichtbare helle doppelbrechende Krystalle.

Das spezifische Gewicht schwankt: Yoshida fand es bei gutem Japanlack = 1,002, bei schlechtem = 1,038. Linsbauer fand es bei Rhus-Compagnie Lack = 1,057.

### Eigene Untersuchung.

Der von uns untersuchte Ki-Urushi stammte aus zwei Quellen. Das eine Muster hatte uns Herr Forstrat Shirasawa in Tokio gesandt, das andere erhielten wir von der Rhus-Compagnie in Frankfurt a. M. Beiden sei auch an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen. Beide Muster stimmten miteinander überein. Es war filtrierter Ki-Urushi d. h. also Ki-shô-mi. Volle, gut verstöpselte Flaschen kann man jahrelang aufheben, ohne daß sich der Lack verändert; an der Luft fängt er nach kurzer Zeit an, sich zu bräunen und bedeckt sich mit einer braunschwarzen Haut, die den Rest des Lackes vor weiterer Veränderung schützt. Die Haut ist gänzlich unlöslich in allen Lösungsmitteln.

Das Produkt wurde erst mit Alkohol, dann mit kaltem Wasser behandelt. Es lieferte folgende Zahlen.

|                              |        |
|------------------------------|--------|
| In Alkohol löslich . . . . . | 72,40% |
| In Wasser löslich . . . . .  | 4,05„  |
| Rückstand . . . . .          | 2,35„  |
| Wasser . . . . .             | 21,20„ |

Die Untersuchung ergab:

Yoshida's Urishinsäure oder Lacksäure, d. h. der alkohollösliche Anteil des Lackes, das Laccol Bertrand's, ist ein Gemisch. Sie läßt sich trennen in einen petrolätherlöslichen Anteil (78%) und einen petrolätherunlöslichen (22%). Der petrolätherlösliche Teil läßt sich wieder in drei Körper trennen. Einer derselben ist ein nicht flüchtiges Gift. Gummi und Enzym lassen sich dagegen nicht quantitativ trennen. Außerdem enthält der Lack Essigsäure.

Der Lack ist hellgraugelblich und hat die Konsistenz eines Balsams. Er dunkelt, der Luft ausgesetzt, schnell. An der Oberfläche bildet sich bald eine undurchlässige Haut, die weitere Veränderungen verhindert. Das Dunkelwerden des Lackes ist die Folge der Einwirkung der Laccase auf die Primärharze in Gegenwart von Wasser

und Luft. Auch andere Mittel, z. B. Alkalien, können ein Dunkelwerden bewirken. Ueberzieht man z. B. ein Stück Holz mit dem Originallack, ein zweites mit sterilisiertem Lack, ein drittes mit sterilisiertem Lack, dem etwas Kalihydrat zugesetzt worden war, und bedeckt alle drei mit feuchtem Filtrierpapier, so wird das erste schnell dunkelbraun und in 24 Stunden hart und fast schwarz, das zweite bleibt unverändert, das dritte wird sogleich schwarz, bleibt aber mehrere Tage weich.

Der unoxydierte Anteil des Harzanteils soll im folgenden als Urushin, der oxydierte als Oxyurushin bezeichnet werden, da die Fällbarkeit durch Metallsalze kein ausreichender Grund ist, die Körper als Säuren anzusprechen.

### Das Harz (Lackharz).

#### A. Der alkohollösliche Anteil.

##### Trennungsversuche.

Um nun den Lack unter möglichstem Luftabschluß mit Alkohol extrahieren zu können, wurde er in ein mit ihm fest verbundenes, starken Alkohol enthaltendes Gefäß mittelst der Pumpe in der Weise hinübergesaugt, daß eine Glasröhre bis auf den Boden tauchte und der Lack also direkt vom Boden des Gefäßes in den Alkohol gelangte.

Die alkoholische Lösung war stark sauer und roch eigenartig. Sie wurde filtriert und der Alkohol abgezogen. Der ölige Rückstand wurde mit Wasser gewaschen. Die wässerige Lösung gab mit KOH neutralisiert und erhitzt einen feinen schwarzen Niederschlag. Derselbe wurde abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand gab alle Reaktionen der Essigsäure (Kakodyl, Essigäther etc.). Der Lack enthält also Essigsäure. Der schwarze Niederschlag wurde durch Salzsäure rot, war aber unlöslich in allen Lösungsmitteln. Er ist offenbar nichts anderes als das Oxyurushin, das, wie wir später sehen werden, sich immer aus dem Lack bildet. Es gelangt dasselbe dadurch in die wässerige Lösung, daß der unoxydierte Lack, das Urushin, sich teilweise in Essigsäure löst.

Destilliert man den Lack mit Wasser, so geht neben einer Spur einer öligen Substanz ein essigsäurehaltiges Destillat über.

Der durch Extraktion des Lackes mit Alkohol und Eindampfen der Lösung erhaltene Harzrückstand wurde mit Aether behandelt und die ätherische Lösung mit Soda ausgeschüttelt. Die Karbonatlösung wurde zuerst grün, dann braun. Sie wurde durch Erhitzen vom Aether befreit und mit Salzsäure angesäuert. Es fiel ein rötlichbrauner Niederschlag. Derselbe war aber nach dem Auswaschen und Trocknen

nicht mehr völlig löslich in Aether, sondern z. T. in Oxyurushin verwandelt. Die mit Soda erschöpfte ätherische Lösung wurde mit 1% KOH ausgeschüttelt. Die abgetrennte alkalische Lösung war tief braungrün und wurde bald braun. Salzsäure gab einen rotbraunen Niederschlag, der aber ebenfalls nicht mehr ätherlöslich war, also auch z. T. in Oxyurushin verwandelt war. Wendet man dann zum Ausschütteln der Aetherlösung eine 5%ige KOH-Lauge an, so bildet sich im Aether ein schwarzer Niederschlag. Die Lauge ist dunkelbraungrün und gibt ebenfalls mit Salzsäure vornehmlich Oxyurushin. Auf diese Weise läßt sich durch vielmaliges Ausschütteln mit Alkali ein Teil des Harzes aus dem Aether entfernen.

Der im Aether entstandene Niederschlag wurde mit Salzsäure erhitzt und gewaschen. Er war nicht mehr in Aether löslich, also auch schon in Oxyurushin verwandelt.

Im Aether bleibt der Hauptteil des Harzes zurück. Es ist also nur ein kleiner Teil in Alkali löslich.

Einem anderen Teile der alkoholischen Harzlösung, der von Essigsäure befreit worden war, wurde alkoholisches Bleiacetat hinzugefügt. Der graue Niederschlag wurde mit Alkohol ausgewaschen, in Alkohol mit  $H_2SO_4$  zerlegt, die Schwefelsäure mit Bleikarbonat entfernt. Nach dem Eindampfen wurde ein dunkelbrauner öliges Rückstand erhalten.

Zum Filtrate vom Bleiacetatniederschlag wurde Bleiessig hinzugesetzt. Es entstand ebenfalls ein grauer Niederschlag, der nach dem Zerlegen ebenfalls einen braunen öligen Körper lieferte. Derselbe war aber heller.

Das Filtrat vom Bleiessigniederschlag war noch von bräunlicher Farbe. Es wurde mit  $H_2SO_4$  entbleit, mit Bleikarbonat von der Säure befreit. Das Filtrat wurde konzentriert und mit Aether ausgeschüttelt. Der Aether gab einen Rückstand, der in Alkohol gelöst mit Bleiacetat und Bleiessig ausgefällt werden konnte.

Bleiacetat lieferte auch aus der ursprünglichen Alkohollösung schließlich ölige Produkte verschiedener Farbe und verschiedener Flüssigkeit. Bleisubacetat ist im allgemeinen ein besseres Niederschlagsmittel als Bleiacetat.

Solange Essigsäure vorhanden ist, erfolgt die Fällung schlechter. Die Fraktionen nehmen in der Farbe und Viskosität ab. Nur die letzten Fraktionen sind giftig. Dies zeigt, daß der alkoholische Auszug zwei oder mehr Substanzen enthält. Keinesfalls trennen die Bleiacetate diese Substanzen quantitativ.

Die vom Blei abgetrennten Substanzen färben sich alle mit Alkali grün bis schwarz. Die Farbe verändert sich mit der Konzentration der Lösung und der Stärke des Alkalis.

Der ölige Rückstand des ursprünglichen alkoholischen Auszuges löste sich nicht in allen Verhältnissen in  $\text{CS}_2$ , Methylalkohol, Amylalkohol, Petroläther (unter  $60^\circ$ ). 1 T. Rückstand in 7 T. Petroläther gelöst, gibt eine klare Lösung (weiteres Hinzufügen von Petroläther gibt eine Trübung). Gießt man diese Lösung in 55 T. Petroläther, so entsteht ein dicker brauner Niederschlag. Dieser Niederschlag wurde nun wieder in wenig Petroläther gelöst und die Lösung in viel Petroläther gegossen und diese Operation mehrfach wiederholt. Die nunmehr in Petroläther unlöslich gewordene Fällung wird mit Petroläther solange gewaschen, bis die Flüssigkeit farblos abläuft.

Man kann also durch Petroläther eine Trennung des Harzes in zwei Anteile bewirken, in einen petrolätherlöslichen und einen petrolätherunlöslichen, doch muß die Operation öfter wiederholt werden. Eine weitere Trennung des petrolätherunlöslichen Anteils läßt sich durchführen, wenn man den Körper in Aether löst und mit Methylalkohol ausfällt. Man erhält dann einen in Methylalkohol löslichen und einen darin unlöslichen Anteil.

Alle diese Körper verändern sich, wenn man sie löst und die Lösung stehen läßt.

Der petrolätherlösliche Anteil wird durch Luft und Licht verändert. Er verliert allmählich teilweis seine Löslichkeit in Petroläther.

1. Der in Petroläther lösliche Teil war löslich in Aether, Chloroform, Alkohol, Methylalkohol, Amylalkohol,  $\text{CS}_2$ , Benzol, Toluol, Xylol, Aceton, Toluidin, Pyridin, Chinolin, Kohlenstofftetrachlorid, Amylacetat, Essigäther, Nitrobenzol, Terpentinöl, Essigsäure und 80 % Chloral.

2. Der in Methylalkohol lösliche Anteil löste sich in allen übrigen Lösungsmitteln, außer Petroläther.

3. Der in Methylalkohol unlösliche Teil war löslich in Aether, unlöslich in Benzol, Toluol, Xylol, Alkohol, Amylalkohol,  $\text{CS}_2$ , Terpentinöl, Kohlenstofftetrachlorid, Essigsäure und 80 % Chloral.

Ein Teil des in Methylalkohol unlöslichen Anteils wird allmählich durch die Operation unlöslich in Aether. Der in Aether unlösliche Teil war auch in allen übrigen Lösungsmitteln unlöslich.

Der in Petroläther lösliche Anteil kann durch Alkohol getrennt werden. Setzt man zu der Lösung in 8 T. Petroläther 4 T. Alkohol und schüttelt, so trennt sich die Flüssigkeit in zwei Schichten. Die obere Petrolätherschicht wird mit Alkohol ausgeschüttelt, solange als der Alkohol etwas aufnimmt. Die Petrolätherschicht enthielt einen öligen ungiftigen, in Alkohol unlöslichen Körper.

Die alkoholische Lösung wird mit Petroläther ausgeschüttelt. Der Rückstand der alkoholischen Lösung ist etwas gallertig. Aus diesem nimmt Petroläther, in geringer Menge zugesetzt, etwas auf. Beide Substanzen sind giftig.

Sämtliche bisher erwähnten Körper werden in alkoholischer Lösung durch Bleiacetat, Bleiessig, Silbernitrat, Merkuronitrat, Kupferacetat, Eisenchlorid gefällt. Die Niederschläge sind schwarz, mit Ausnahme der Bleifällungen.

Alle oben erwähnten Körper werden durch die Hydrate und Karbonate der Alkalien, sowie durch Barythydrat und Calciumhydrat schwarz mit einer Nuance von grün oder blaugrün. Erhitzt man sie trocken mit KOH, so entwickeln sie ein Gas, das Lackmus bläut und einen mit Salzsäure angefeuchteten Fichtenspan rötet. Sie geben alle die Pyrrolreaktion. Nach der Methode von Lassaigne läßt sich Stickstoff in ihnen nicht nachweisen.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich, daß der von Yoshida und Korschelt untersuchte und analysierte Körper, die Urushinsäure, ein Gemisch ist, das sich durch Petroläther, Methylalkohol, Aether, Bleiacetat und -subacetat und Alkalien in mehrere Anteile trennen läßt. Keiner der Anteile war aber krystallinisch zu erhalten und alle zeigen das Bestreben sich zu verändern, in Lösungsmitteln, in denen sie früher löslich waren, unlöslich zu werden. Besonders Alkalien verändern die Substanzen rasch.

Es blieb also nichts anderes übrig, als die durch möglichst indifferente Lösungsmittel getrennten Körper im amorphen Zustande einer vergleichenden Untersuchung zu unterwerfen.

#### Vergleichende Untersuchung der einzelnen Substanzen des alkohollöslichen Anteils des Harzkörpers.

1. Der in Methylalkohol lösliche Anteil (s. oben) wurde auf Glasplatten ausgebreitet und im Trockenschränke getrocknet. Die Substanz wurde schließlich fest und konnte gepulvert werden.

Aether löste von dem Körper etwas. Dampfte man aber die Lösung ein und trocknete den Rückstand, so war derselbe nun unlöslich in Aether.

Der Körper enthielt etwas Asche (Si, Al und etwas Ca), die auch durch Kochen mit Salzsäure nicht ganz entfernt werden kann.

Die Analyse der bei 105° getrockneten Substanz ergab:

0,283 gaben 0,2045 H<sub>2</sub>O und 0,7452 CO<sub>2</sub>.

0,3268 „ 0,2288 „ „ 0,8457 „



|       |          |       |        |
|-------|----------|-------|--------|
|       |          |       | Mittel |
| C     | = 71,808 | 71,51 | 71,659 |
| H     | = 8,01   | 7,85  | 7,93   |
| N     | = 1,57   | 1,646 | 1,608  |
| Asche | = 0,600  | —     | —      |

Eine andere Probe derselben Substanz wurde in Alkohol gelöst, dazu NaOH gesetzt und bis zur Verdunstung des Alkohols erhitzt. Der reichliche schwarze Niederschlag wurde durch Auswaschen mit  $H_2O$  vom Alkali befreit und dann mit HCl gekocht. Dadurch wird die schwarze Farbe in rötlichbraun verändert. Dann wurde die Säure ausgewaschen, der Körper bei  $105^{\circ}$  getrocknet und analysiert.

0,2436 gaben 0,1718  $H_2O$  und 0,644  $CO_2$   
 0,222     "   0,1534     "     "   0,5814     "

|       |         |        |        |
|-------|---------|--------|--------|
|       |         |        | Mittel |
| C     | = 71,72 | 71,418 | 71,569 |
| H     | = 7,888 | 7,773  | 7,830  |
| N     | = 0,49  | 0,560  | 0,525  |
| Asche | = 1,08  | 1,06   | 1,070. |

2. Die Substanz, unlöslich in Methylalkohol und unlöslich in Aether, wurde mit HCl 4 Stunden erhitzt, um die Asche zu entfernen. (Es gelang dies aber nicht vollständig.) Dann mit  $H_2O$  ausgewaschen, bei  $105^{\circ}$  getrocknet und analysiert.

0,388 gaben 0,2881  $H_2O$  und 1,0232  $CO_2$ .

|       |          |
|-------|----------|
| C     | = 71,896 |
| H     | = 8,303  |
| N     | = 1,680  |
| Asche | = 0,400. |

3. Die Substanz, unlöslich in Methylalkohol und löslich in Aether, wurde auf Glasplatten im Trockenschrank getrocknet. Dadurch wurde sie unlöslich in allen Lösungsmitteln.

0,3606 gaben 0,295  $H_2O$  und 0,971  $CO_2$ .

|       |          |
|-------|----------|
| C     | = 73,430 |
| H     | = 9,145  |
| N     | = 1,850  |
| Asche | = 0,451. |

4. Eine zweite Probe der gleichen Substanz (3) wurde in Aether gelöst und Alkohol hinzugefügt, durch NaOH niederschlagen, während 2 Stunden auf dem Dampfbade erhitzt, dann das Alkali ausgewaschen, 4 Stunden mit HCl erhitzt, ausgewaschen und bei  $105^{\circ}$  getrocknet. Die Analyse ergab:

0,2074 gaben 0,194 H<sub>2</sub>O und 0,5482 CO<sub>2</sub>.

|       |   |       |
|-------|---|-------|
| C     | = | 72,08 |
| H     | = | 10,46 |
| N     | = | 0,74  |
| Asche | = | 1,02. |

Ein Teil der in Petroläther löslichen Substanz wurde in Alkohol aufgelöst, eine starke Lösung von NaOH hinzugefügt und erhitzt. Es entstand eine zusammenklebende schwarze Masse auf der Oberfläche, darunter befand sich eine Emulsion. Aus letzterer scheiden sich beim Erkalten ölige Kügelchen ab. (Aether und Petroläther lösen einen großen Teil des Niederschlages und die öligen Kügelchen.) Setzt man zu der Flüssigkeit noch mehr NaOH und erhitzt wieder 2 Stunden, so bildet sich ein schwarzer Niederschlag und es entsteht darüber eine klare Lösung. Setzt man dann Wasser hinzu, so wird die Flüssigkeit trübe und unfiltrierbar. Sie klärt sich aber durch Kochsalzzusatz. Der Niederschlag wird mit Kochsalzlösung ausgewaschen, mit HCl erhitzt (er wird dadurch rötlich braun), mit H<sub>2</sub>O gewaschen, getrocknet und gepulvert, dann mit Aether erschöpft (Aether löst  $\frac{1}{3}$ ). Der in Aether unlösliche Rückstand, der auch in allen übrigen Lösungsmitteln unlöslich ist, wurde bei 105° getrocknet und analysiert.

0,366 gaben 0,2628 H<sub>2</sub>O und 0,945 CO<sub>2</sub>.

|        |   |       |   |   |        |   |        |
|--------|---|-------|---|---|--------|---|--------|
| 0,3016 | " | 0,213 | " | " | 0,7855 | " | Mittel |
| C      | = | 70,96 |   |   | 71,032 |   | 70,996 |
| H      | = | 8,03  |   |   | 7,899  |   | 7,964  |
| N      | = | 0,24  |   |   | 0,25   |   | 0,245  |
| Asche  | = | —     |   |   | —      |   | 1,200. |

Der in Aether lösliche Teil war dunkel und in Lösung kräftig rot. Wenn man den Aether freiwillig verdampfen und den Rückstand stehen ließ, so wurde auch hier ein Teil in allen Lösungsmitteln unlöslich. Dieser mit Aether extrahiert und bei 105° getrocknet, lieferte folgende Analysenzahlen:

0,3104 gaben 0,2387 H<sub>2</sub>O und 0,7983 CO<sub>2</sub>.

|        |   |        |   |   |        |   |        |
|--------|---|--------|---|---|--------|---|--------|
| 0,2394 | " | 0,190  | " | " | 0,6222 | " | Mittel |
| C      | = | 71,012 |   |   | 70,897 |   | 70,954 |
| H      | = | 8,596  |   |   | 8,877  |   | 8,736  |
| N      | = | —      |   |   | 0,850  |   | —      |
| Asche  | = | —      |   |   | —      |   | 0,210. |

Die ätherische Lösung von obigem freiwillig verdunstet, liefert einen Rückstand, der in Aether und Alkohol löslich bleibt. Selbst wenn er mehrere Tage steht und selbst wenn man Lösung und Ver-

dunstung mehrmals wiederholt. Beim Erhitzen auf  $100^{\circ}$  wird er aber (wie der vorige) unlöslich in allen Lösungsmitteln. Die Analyse ergab:

0,329 gaben 0,2501  $H_2O$  und 0,8874  $CO_2$ .

|        |       |        |        |        |        |   |        |
|--------|-------|--------|--------|--------|--------|---|--------|
| 0,3374 | "     | 0,2588 | "      | "      | 0,9121 | " | Mittel |
|        | C     | =      | 73,554 | 73,721 | 73,637 |   |        |
|        | H     | =      | 8,503  | 8,579  | 8,541  |   |        |
|        | N     | =      | —      | —      | 1,200  |   |        |
|        | Asche | =      | —      | —      | 0,160. |   |        |

Im folgenden sind die Ergebnisse tabellarisch zusammengestellt.

#### A. Anteil in Petroläther unlöslich.

##### Löslich in Methylalkohol.

|  | C      | H     | N     | Asche |
|--|--------|-------|-------|-------|
| 1. In Methylalkohol löslich, getrocknet . . . . .                | 71,659 | 7,930 | 1,608 | 0,600 |
| 2. In Methylalkohol löslich, niedergeschlagen mit NaOH . . . . . | 71,569 | 7,830 | 0,490 | 1,070 |

##### Unlöslich in Methylalkohol.

|   |        |        |       |       |
|---|--------|--------|-------|-------|
| 3. In Aether unlöslich . . . . .                            | 71,896 | 8,306  | 1,680 | 0,400 |
| 4. In Aether löslich, getrocknet . . . . .                  | 73,430 | 9,145  | 1,850 | 0,451 |
| 5. In Aether löslich, niedergeschlagen durch NaOH . . . . . | 72,080 | 10,460 | 0,740 | 1,02  |

#### B. Anteil in Petroläther löslich.

|  |        |       |       |       |
|--|--------|-------|-------|-------|
| 6. In Petroläther löslich, niedergeschlagen durch NaOH, unlöslich in Aether . . . . .  | 70,996 | 7,966 | 0,245 | 1,200 |
| 7. In Petroläther löslich, niedergeschlagen durch NaOH, anfangs löslich in Aether, wird durch Verdampfen unlöslich . . . . . | 70,954 | 8,736 | 0,85  | 0,210 |
| 8. In Petroläther löslich, niedergeschlagen durch NaOH, löslich in Aether, wird unlöslich beim Erhitzen . . . . .            | 73,637 | 8,541 | 1,20  | 0,160 |
| Yoshida's Oxyurushinsäure . . . . .  | 71,52  | 8,23  | —     | —     |
| Yoshida's Urushinsäure . . . . .   | 77,05  | 9,01  | —     | —     |

Die in Aether lösliche Substanzen (4 und 5) bilden weniger als 1% des Rückstandes der alkoholischen Lösung, d. h. des löslichen Harzanteiles des Japanlackes. Daher konnte nur eine Analyse gemacht werden. Ebenso ist nur ein geringer Prozentsatz von No. 8 vorhanden, die Hauptmasse des Harzanteiles des Lackes wird von den Substanzen 1,

(2), 6 und 7 gebildet. Es ist vom Harze etwas mehr in Petroläther löslich, wie in Petroläther unlöslich.

Die wichtigste Eigenschaft des japanischen Lackes ist der Luft, dem Licht, allen Lösungsmitteln und Chemikalien zu widerstehen. Die vorstehenden Untersuchungen zeigen, daß auch Alkalien und Säuren das Lackharz in eine gänzlich unlösliche Form verwandeln. Das Endprodukt scheint, wie die Analysen zeigen, immer dasselbe zu sein, ob die Umwandlung durch das Enzym oder durch anorganische Reagentien erfolgt.

|   | C      | H     | N     | Asche |
|---|--------|-------|-------|-------|
| Mittel aus 1 und 3 erhalten durch Trocknen . . . . .      | 71,777 | 8,118 | 1,644 | 0,5   |
| Mittel aus 2, 6, 7, niedergeschlagen durch NaOH . . . . . | 71,173 | 8,177 | 0,528 | 0,82  |
| Yoshida's Substanz mit Chromsäure erhalten . . . . .      | 71,52  | 8,280 | —     | —     |
| Yoshida's erhärteter Lack . . .                           | 70,85  | 8,22  | 0,092 | 0,032 |

Yoshida nannte den oxydierten Körper Oxyurushinsäure und gab ihm die Formel  $C_{14}H_{18}O_8$ . Sie besitzt aber nicht die Eigenschaft einer Säure. Sie mag daher besser als Oxyurushin bezeichnet werden. Die Analysen Yoshida's stimmen mit den unserigen ziemlich gut überein, was C und H betrifft, den Stickstoff hat Yoshida übersehen.

Daß Oxyurushin Stickstoff enthält, ist zweifellos. An eine Verunreinigung mit Laccase kann nicht wohl gedacht werden, da diese in Alkohol und Petroläther unlöslich ist. Auch alle anderen Eiweißkörper würden bei der obigen Behandlung teils abgetrennt, teils durch Lösung entfernt werden. Der Stickstoff muß also wohl zu der Substanz selbst gehören. Nun wäre jedoch noch die Frage zu diskutieren, ob nicht der Stickstoffgehalt daher rührt, daß das Enzym auf das Urushin bereits eingewirkt und mit diesem eine Verbindung gebildet habe. Dem ist entgegenzuhalten, daß erstlich die Enzyme sich nicht mit den Körpern verbinden, auf die sie wirken, sondern sich als echte Katalysatoren verhalten. Sodann ist ja dem Enzym im vorliegenden Falle garnicht Gelegenheit gegeben worden, auf das Urushin einzuwirken, denn der Lack wurde unter Ausschluß der Luft in überschüssigen absoluten Alkohol direkt hinübergesaugt. Das in Gegenwart von Luft und Wasser wirkende Enzym konnte also nicht reagieren. Daß es in der Tat nicht reagiert hat, zeigt ja auch die Löslichkeit des Harzanteils in Alkohol. Das Oxyurushin, das Produkt der Harz-oxydation, ist, wie wir sahen, unlöslich in allen Lösungsmitteln. Er-

halten wir also einen in Alkohol löslichen Teil, so kann in diesem sich die Oxydation noch nicht vollzogen haben.

Das sind die Gründe, die uns veranlassen, anzunehmen, daß der Stickstoffgehalt des Urushins und Oxyurushins weder von beigemengtem Enzym, noch von einem Reaktionsprodukte des Enzyms und der Harzsubstanz herrührt, sondern dem Körper selbst eigen ist.

Immerhin ist nicht zu leugnen, daß es nicht ganz ausgeschlossen ist, daß etwas Enzym mit in die alkoholische Lösung übertritt. Denn wir wissen durch Dastre<sup>1)</sup>, daß es Enzyme gibt, die noch in 50—60% Alkohol löslich sind. Doch sind petrolätherlösliche Enzyme unbekannt. Auch spricht der verhältnismäßig hohe Prozentgehalt an Stickstoff und die relative Konstanz desselben bei allen gleichbehandelten Präparaten gegen eine mechanische Beimengung. Verdächtig bleibt immerhin der Stickstoffverlust beim Behandeln mit Alkalien.

Der Stickstoff konnte nicht mit Hilfe der Kjeldahl'schen Methode bestimmt werden. Es mußte daher die Dumas'sche Methode benutzt werden. Die Resultate waren gut übereinstimmend.

Die Versuche, aus den Ergebnissen eine Formel zu berechnen, führten vorläufig zu keinem befriedigenden Resultate. Nicht in Betracht können die Analysen kommen, die mit Material vorgenommen wurden, welches mit Alkalien in Berührung gekommen war (2, 6, 7). Wie die Stickstoffbestimmungen zeigen, erleidet die Substanz bei Behandlung mit Alkalien Stickstoffverlust.

Legt man die Analysen der Körper zu Grunde, die nicht mit Alkalien in Berührung gekommen waren (1 und 3), so ergibt sich folgendes:

| Gefunden: |          | Berechnet für<br>aschefreie Substanz: | Berechnet für<br>$C_{109}H_{188}N_2O_{19}$ : |
|-----------|----------|---------------------------------------|--|
| C         | = 71,777 | 72,137                                | 72,206                                       |
| H         | = 8,118  | 8,156                                 | 8,202  |
| N         | = 1,644  | 1,652                                 | 1,656  |
| Asche     | = 0,5    | —                                     | —  |
| O         | = —      | —                                     | 17,936.                                      |

Doch ist dieser Berechnung kein großes Gewicht beizulegen. Die Formel ist nur eine vorläufige.

Immerhin darf aus allem der Schluß gezogen werden, daß das Molekül ein hohes ist, und daß der Körper wohl durch innere Polymerisationen entstanden ist.

Das Urushin und Oxyurushin sind jedenfalls die ersten uns bekannt gewordenen Harzkörper, die Stickstoff enthalten. Durch diese Eigenschaft erhält die Substanz eine Sonder-

<sup>1)</sup> Compt. rend. 121 (1895), 899.

stellung, wie ja auch das Sekret selbst, der Japanlack, eine Sonderstellung unter den Sekreten einnimmt.

Erwiesen ist ferner, daß in dem ursprünglichen Sekrete mehrere durch ihre Löslichkeit in Methylalkohol, Petroläther, Aether etc. zu unterscheidende Harzkörper vorhanden sind, das Urushin (die Urushinsäure Yoshida's, das Laccol Bertrand's) also keinesfalls ein einheitlicher Körper ist, daß jedoch bei den verschiedensten Behandlungsweisen schließlich immer ein mehr oder weniger unlöslicher Körper entsteht, der im allgemeinen stets die gleichen Analysenzahlen liefert, und der wohl mit Yoshida's Oxyurushinsäure nahe verwandt oder damit identisch ist.

Bemerkenswert erscheint, daß der ursprüngliche Harzkörper sehr unbeständig resp. sehr leicht oxydabel ist. Am raschesten erfolgt die Oxydation durch die Laccase in Gegenwart von Wasser und Luft, dann aber auch bei der Verarbeitung des von der Laccase abgetrennten Harzkörpers.

Die Eigenart des Oxyurushins erklärt die wertvollen Eigenschaften des Japanlackes, namentlich seine außerordentliche Resistenz gegen nahezu alle Agentien. Es entsteht auf verschiedene Weise, zunächst beim Lackieren durch die Einwirkung der Laccase auf die Primärharze; aber auch bei der Behandlung der letzteren mit Reagentien, beim Eindampfen der Lösungen, beim Trocknen der Lösungsrückstände erhält man immer diesen unlöslichen und resistenten Körper als Endprodukt der Einwirkung. Arbeitet man in saurer Lösung, so ist die Substanz rotbraun, arbeitet man in alkalischer, so ist sie schwarz.

### B. Der alkoholunlösliche Anteil.

Der Rückstand des Lackes, der unlöslich in Alkohol und Wasser war, bestand vornehmlich aus erhärtetem Lack. Durch Kochen mit Alkalihydrat und Filtrieren wurde eine dunkelbraune Lösung erhalten, die durch Neutralisieren und Eindampfen einen hygroskopischen Rückstand gab, der in Wasser löslich war, aber unlöslich in Alkohol und Aether.

Alle Versuche, ein krystallinisches Produkt hieraus zu erhalten, mißlingen. Der in Alkali unlösliche Rückstand wurde mit rauchender Salpetersäure erhitzt, die Lösung konzentriert und die Flüssigkeit dann in Wasser gegossen. Der Niederschlag war gummiartig, löslich in Alkohol, aber nicht krystallisierbar. Die wässerige Lösung enthält Oxalsäure, aber keine Pikrinsäure oder Styphninsäure. Auch das Oxyurishin lieferte bei der Oxydation mit Salpetersäure nur Oxalsäure und keine Pikrinsäure oder Styphninsäure.

### Die giftige Substanz des Japanlackes (Lackgift) und die sogen. Lackkrankheit (Urushi-Kaburé).

Görtz<sup>1)</sup> gibt die folgende Beschreibung der schon Kämpfer bekannten Lackvergiftungen, bei welchen die Idiosynkrasie des Individuums eine wichtige Rolle spielt. Einige Stunden nach der Vergiftung beklagt sich der Patient über eine unangenehme Spannung der Haut, gewöhnlich des Gesichtes, des Hinterkopfes und der Extremitäten. Bald darnach bildet sich ein Oedem an den betreffenden Stellen, kleine rote Punkte werden sichtbar, welche aussehen wie feine Papillen, einen Ausschlag bildend. Die Papillen werden größer und bilden an der Spitze kleine Bläschen, die eine wässrige Flüssigkeit enthalten, worauf feine papillöse Pusteln entstehen.

Rein<sup>2)</sup> beschreibt die Vergiftung wie folgt: Er nennt die Lackkrankheit „eine eigentümliche, weder lebensgefährliche, noch besonders schmerzhaft, immerhin sehr unangenehme Krankheit“, die sich zunächst durch gelinde Rötung, Anschwellung der Handrücken, des Gesichtes, der Augenlider, der Ohren, der Nabelgegend und tiefer gelegener Körperteile (Scrotum) bemerklich mache, verbunden mit heftigem Jucken und Brennen, das nach 2—3 Tagen seinen Höhepunkt erreicht und 2—3 schlaflose Nächte verursacht. Dabei treten kleine eiternde Geschwüre auf.

Aehnlich schildert schon Pater d'Incarville die Krankheit.

Rein ist der Ansicht, daß die Krankheit „nicht bloß durch unmittelbare Berührung, sondern auch vornehmlich durch die Ausdünstung des Lackes hervorgerufen werde“. Und bereits Kämpfer bemerkt: „Vernix venenatum expirat halitum, ex quo labia tumescunt et caput dolet; unde in delirando artifices strophiole et nares obligant.“

Fornet<sup>3)</sup> vergleicht die Symptome mit denjenigen, welche durch *Anacardium* und *Rhus toxicodendron* hervorgerufen werden und findet sie sehr ähnlich. Doch ist — das sei hier ausdrücklich hervorgehoben — die Angabe Kämpfers<sup>4)</sup>, daß dem Japanlack der Saft von *Anacardium* beigemengt werde, unrichtig.

<sup>1)</sup> Ueber in Japan vorkommende Fisch- und Lackvergiftungen St. Petersburg. med. Wochenschr. 1878, No. 12.

<sup>2)</sup> Japan, Leipzig 1886, S. 293.

<sup>3)</sup> Arch. f. Dermat. u. Syphil. LX, S. 249.

<sup>4)</sup> Kämpfer bemerkt nämlich: „Vernicem Ceres Japonica largitur oppido nobilem et pretiosissimam, sed admodum parcam, ne pro operibus, quae regio construit, sufficaret, nisi prius cum Nam-Rak i. e. Vernice ignobiliore ex Siam invecata, pro basi illinerentur. Siamensis vernix promitur in provincia Corsama et regno Cambodiae ex arbore *Anacardi* incolis Tonj Rak, i. e. arbor Rak dicta, cujus fructus officinis nostris *Anacardium* dictus, Luk-Rak, liquor Nam Rak appellatur.“

Rein sagt, daß, wenn man die Lackdosen öffnet, man sorgfältig sein müsse, daß die Gase nicht in Berührung mit dem Gesicht oder den Händen kommen, da der giftige Teil des Lackes flüchtig sei. „Wenn der Lack in geschlossener Schachtel eine Zeitlang eingeschlossen war, wendet selbst der abgehärtete Lackarbeiter sein Gesicht beim Öffnen des Gefäßes ab, damit ihn die angehäuften Dünste nicht bestreichen.“ Yoshida sagt auch, daß der Lack ein flüchtiges Gift enthält, welches mit Urushinsäure durch Alkohol gelöst wird, welches aber vollständig beseitigt wird durch Trocknen der Urushinsäure. Bertrand bemerkt, daß der Lack mit der größten Vorsicht behandelt werden müsse, da die kleinsten Spuren davon in Dampfform auf den Händen, Armen und dem Gesicht eine starke Rötung hervorrufen, begleitet von intensivem Jucken. Er fügt hinzu, daß diese bössartigen Eigenschaften das Studium des Lackes zu einem sehr unangenehmen machen. Er war genötigt, das Studium wegen individueller Sensibilität zu unterbrechen.

Nach diesen Berichten erschien es uns ziemlich bedenklich, den Lack zu studieren und der eine von uns (St.) hatte dann auch anfangs heftig unter den Symptomen der Lackvergiftung zu leiden, bis ermittelt war, daß das Gift zwar nicht flüchtig ist, aber sehr schwer von den Körperteilen zu entfernen ist, mit denen es einmal in Berührung kam und daher leicht überall hin verschmiert wird.

Die erste Probe befand sich in einer Glasdose mit Metalldeckel, der durch den Lack festgekittet war, letzterer war schwer zu entfernen. Als die Entfernung gelang, entwichen Gase. Nach 36 Stunden zeigte sich (bei St., der das Öffnen vornahm), ein entzündeter Fleck von 2—3 cm Durchmesser am Handgelenk. Derselbe juckte außerordentlich während einer Woche und verschwand dann. Da wir anfangs annahmen, daß das Gift flüchtig sei, waren wir sehr vorsichtig, nicht mit den Dämpfen in irgend einer Form in Berührung zu kommen. Wir glaubten aber ganz sicher zu sein, daß eine Vergiftung ausgeschlossen sei, wenn der Alkohol von der Lösung des Lackharzes abdestilliert und der Rückstand einige Zeit erhitzt war. Während des Ausschüttelns der Aetherlösung des Lackharzes mit Soda war es schwer die Hände gänzlich von der Berührung mit der Lösung frei zu halten und wir gaben uns auch keine besondere Mühe, sie vor der Berührung zu bewahren, nur wurden sie stets sorgfältig mit Wasser und Seife gewaschen. Indessen der eine von uns (St.) sollte für die Unachtsamkeit hart bestraft werden. Schon nach kurzer Zeit schwoll das Gesicht so stark an, daß die Augen fast geschlossen waren, und die Schwellung erstreckte sich über die Hände, Arme und Glieder bis



zu den Knien. Dabei trat ein höchst unangenehmes Jucken auf im Gesicht, an den Ohren dagegen ein heftiges Brennen. Die Symptome waren so heftig, daß während mehrerer Tage an Schlafen nicht zu denken war. Nach ungefähr einer Woche war das Gesicht wieder normal. Doch dauerte das Jucken an den Gliedern an und sie blieben mit einem feinen Ausschlag bedeckt. Nach einiger Zeit kamen wir zu der Ueberzeugung, daß die Unterwäsche ein Nessushemd geworden, etwas von dem Gifte aufgenommen hatte und trotz öfteren Waschens dasselbe zurückhielt. Im letzten Stadium, ehe der Ausschlag verschwand, erschienen Schuppen.

Keine Besserung oder Linderung wurde erzielt durch Einstreichen mit Zinkoxyd, Alaun, Bleiessig, Bismut. subnitricum, durch Waschungen mit Permanganat, die bei Rhus Toxicodendronvergiftungen benutzt werden, Waschungen mit Borsäurelösung oder mit Borax, Einreiben mit Zinksalbe- oder Bäder. Dagegen wurde Linderung erzielt, wenn man die Stellen mit Vaseline einrieb und dann mit einem Messer vorsichtig abkratzte oder durch Waschungen mit schwach alkalischen Lösungen ( $\text{NaOH}$  oder  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) oder im Gesicht durch Umschläge mit gesättigter Borsäurelösung.

Der Direktor der dermatologischen Klinik der Universität, Prof. Jadassohn meinte, daß die übrigen Symptome nicht dafür sprächen, daß das Gift flüchtig sei. Er hat dann in seiner Klinik Versuche mit dem Gifte angestellt, besonders an Kaninchen, die für das Gift sehr empfindlich sind. Das Gift wurde 2—3 Minuten in das Innere des Ohres eingerieben. Wenn giftig, erschien die Entzündung in 1—5 Tagen. Die Haut wurde mit Bläschen bedeckt, in ernsten Fällen trat Nekrose der Hautoberfläche ein. Dies dauerte 2—14 Tage, dann nahm sie allmählich ab.

Die Ergebnisse der Untersuchung auf Giftigkeit waren folgende:

1. Sterilisierter Lack, erhalten durch Einstellen desselben in kochendes Wasser während einer halben Stunde, war giftig.

2. Eine alkoholische Lösung des Lackes wurde destilliert, das Destillat war nicht giftig.

3. Nachdem der Alkohol verjagt war wurde weiter destilliert. Es ging ein wässriges Destillat über, dasselbe war auch nicht giftig.

4. Der Destillationsrückstand aber war außerordentlich giftig.

5. Eine mit Lack gefüllte Flasche wurde stark gekühlt um das Entweichen des Gases beim Oeffnen zu verhindern. Zwei kleine Oeffnungen wurden in den Kork gemacht und in diese mit Baumwolle lose verstopfte Glasröhren eingeführt. Diese Glasröhren wurden dem zuvor befeuchteten Ohre des Kaninchens angedrückt und das Gefäß mit der Hand erwärmt. Das austretende Gas war ungiftig.

6. Das Lackharz war (s. oben) von uns durch Petroläther in zwei Anteile getrennt worden, einen petrolätherlöslichen und einen petrolätherunlöslichen. Nur der petrolätherlösliche Anteil war giftig. Er blieb giftig, auch wenn der Verdampfungsrückstand 4 Monate in einer offenen Schale der Luft ausgesetzt blieb.

Ein anderer Anteil des Rückstandes blieb in einer offenen Flasche über den Sommer hin 10 Monate im Laboratorium stehen. Er war auch dann noch giftig.

Dies alles zeigt, daß das Gift nicht flüchtig sein kann. Die Vergiftungen beim Öffnen der Gefäße sind nur so zu erklären, daß kleine Mengen Substanz herausgeschleudert wurden.

Das Gift wirkt noch in außerordentlich geringen Mengen. Es ist, da es mit dem Harze vergesellschaftet ist, sehr schwer von der Haut und den Kleidern zu entfernen. Waschen mit Wasser und Seife genügt nicht. Wäscht man z. B. die Hände, die mit dem Lack in Berührung kamen, mit Wasser und Seife und taucht sie dann in verdünnte NaOH, so treten feine schwarze Punkte und Linien noch reichlich auf. Am besten und sichersten geschieht die Reinigung mit einem Gemisch von gepulverter Seife, Bimsstein und Soda und darnach mit Seife und Sand.

Das Gift wirkt merkwürdigerweise nicht auf die innere Handfläche, muß aber wegen der möglichen Verschleppung auch dort entfernt werden.

Durch Zufall kam etwas der Benzollösung in das Auge und auf die Hand. Das Auge wurde gründlich mit Benzin und Alkohol gewaschen, die Hand aber über der Sorge um das Auge während 30 Minuten vergessen, worauf sie dann auch gründlich zunächst mit Benzin, dann wie oben gereinigt wurde. Das Auge kam ohne Schädigung davon, die Hand war jedoch nach 36 Stunden geschwollen, juckte beträchtlich während einer Woche und schuppte dann ab.

Um die Giftigkeit der Substanzen zu prüfen, wurde später in der Weise verfahren, daß ein in der Mitte perforiertes Gummipflaster auf den Arm gelegt und etwas der Substanz auf die offene Stelle gebracht und diese dann wieder, um jedes Verschmieren zu verhindern, mit Pflaster bedeckt wurde.

Da, wie alle Versuche zeigten, die Wirkung des Giftes eine ausschließlich lokale ist, so tritt, wenn die Substanz giftig ist, an der betupften Hautstelle Rötung, Jucken und Pustelbildung ein; nie an einer anderen Stelle des Körpers. Wird nach  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde das Pflaster entfernt, die Hautstelle mit Petroläther gewaschen, so tritt, wenn die Substanz giftig ist, ungefähr nach 30 Stunden Rötung

und Jucken ein, dann erscheinen 3—5 Pusteln. Das Jucken dauert meist nur einige Minuten. Es bildet sich, wenn der Reiz verschwunden ist, eine trockene Haut auf der Stelle.

Es war nicht möglich, das Gift in reinem Zustande zu isolieren. Wir erhielten es stets als gelbbraunliches Oel.

Prof. Jadassohn und seine Assistenten Winckler und Schulz, denen wir für ihre freundliche Unterstützung sehr zu Danke verbunden sind, machten 26 Versuche mit von uns isolierten Teilen des petrolätherlöslichen Anteils, denn nur der petrolätherlösliche Anteil ist giftig. Er war von uns durch Ausschütteln der Petrolätherlösung mit Alkohol in zwei Teile getrennt worden. Der alkohollösliche Anteil war giftig, der andere, alkoholunlösliche Anteil war ungiftig. Durch Bleiacetat kann der giftige Anteil wieder geschieden werden. Die Scheidung ist aber nicht quantitativ und dabei unpraktisch.

Pfaff<sup>1)</sup> hat gezeigt, daß das Gift von *Rhus Toxicodendron* nicht flüchtig ist. Er isolierte das Gift mit Bleiacetat und fand, daß es eine ölige Substanz ist.

Das giftige Prinzip des Japanlackes, das Lackgift, ist mit dem Lackharz so innig verbunden, daß es mittelst Bleiacetat nicht davon zu trennen ist.

Pfaff's Toxicodendrongift war löslich in Aether, Chloroform, Benzol, Alkohol, unlöslich in Wasser, schon 0,005 mg erzeugten heftige Schmerzen auf dem Vorderarm und Schlaflosigkeit. Er beobachtete (ebenso wie Kunkel) eine gewisse Latenz der Wirkung, indem die Symptome erst nach 4—5 Tagen (nach Kunkel nach 2—3 Tagen) erscheinen.

Das Gleiche haben wir beim Lackgift beobachtet. Und auch wir erhielten schon mit außerordentlich geringen Spuren heftige Wirkungen.

Wahrscheinlich sind die giftigen Substanzen des Lacks und des *Rhus Toxicodendron* entweder identisch oder nahe verwandt. Pfaff gibt die Formel seines durch Bleiacetatfällung erhaltenen Bleitoxicodendrols auf  $C_{21}H_{30}O_4Pb_6$  an. Er nennt die giftige Substanz Toxicodendrol.

Man könnte die giftige Substanz des Japanlackes dementsprechend Verniciferol nennen. Auch dieser Körper war ein Oel. Aber es ist fraglich, ob wir ihn in reiner Form vor uns hatten. Es war nicht möglich eine gute Reinigungsmethode zu finden. Immer geben die Produkte noch die Urushinreaktion mit Alkalien. Wir hätten uns trotz der Gefährlichkeit der Substanz der Reinigung derselben

<sup>1)</sup> On the active principle of *Rhus Toxicodendron* and *Rh. venenata*. Journ. of exper. med. 1897, Vol. II, No. 2, p. 181. (Virchow's Jahresber. 1897, I, 397.)

gern unterzogen, aber nach all den Vorversuchen war schließlich das Material nahezu verbraucht.

Nun, für die Praxis genügt es zu wissen, daß das Gift nicht flüchtig ist, durch Erwärmen nicht unwirksam wird und nur lokal wirkt, daher rasch und gründlich von den Stellen entfernt werden muß wohin es gelangt. Alle mit Japanlack arbeitenden Personen werden also gut tun, entweder die Hände durch Handschuhe zu schützen oder sie nach jeder Operation gut mit Sand, Bimsstein, Soda und Seife zu reinigen, niemals aber mit ihnen andere Körperteile zu berühren. Die außerordentlich heftige Erkrankung des einen von uns war hauptsächlich dadurch verursacht worden, daß das ursprünglich nur an den Händen anhaftende Gift durch Kratzen schließlich über den ganzen Körper verbreitet worden war, in Spuren sogar an der Unterwäsche haften blieb und so immer neue Entzündungen hervorrief. Denn es genügen, wie gesagt, Spuren des Körpers, um die Krankheitserscheinungen hervorzurufen.

Es erübrigt noch einige Worte über die Beziehungen des Lackgiftes zum Cardol zu sagen. Daß die Angabe Kämpfers unrichtig ist, daß der Japanlack mit dem Saft von Anacardium gemischt werde, ist schon oben erwähnt worden. Dann aber hat Buchheim behauptet daß die Blätter von *Rhus Toxicodendron* Cardol enthalten<sup>1)</sup>.

Nun, die Cardolvergiftung hat in der Tat einige Ähnlichkeit mit der Lackvergiftung. Cardol erzeugt auf der Haut eine erysipelatöse und pustulöse Dermatitis. Gieseler<sup>2)</sup> erhielt durch Auflegen der Fruchtschalen von *Anacardium* eine papulöse Hautentzündung, die vom Entstehungsorte sich verbreitete und erst in der zweiten Woche ausheilte. (Dragendorff und Basiner sagen, die Wirkung sei fast ebenso stark wie die des Cantharidins.) Beim innerlichen Gebrauch sah er keine schädliche Wirkung, Basiner<sup>3)</sup> eine viel schwächere. Kunkel<sup>4)</sup> sagt, daß das Gift von *Rhus Toxicodendron* (und wohl auch *Rhus vernicifera*) dem Cardol nahestehe. Es erzeuge auch eine enorm starke Hautentzündung. Auch Fornet (s. oben) vergleicht die Wirkung mit der des Cardols.

Nun stehen ja in der Tat *Rhus* und *Anacardium* im System sehr nahe bei einander, und die Möglichkeit ist in der Tat nicht ausgeschlossen, daß der gleiche Körper sowohl in *Rhus vernicifera* wie in *Rhus Toxicodendron* und den *Anacardium*- und *Semecarpus*arten

<sup>1)</sup> Auch die Vanillevergiftungen sind ja bekanntlich irrtümlicherweise auf Cardol zurückgeführt worden.

<sup>2)</sup> Dissertation Bonn 1896.

<sup>3)</sup> Dissertation Dorpat 1881.

<sup>4)</sup> Handb. d. Toxikologie II, 982.

enthalten ist. Zunächst läßt sich aber noch nichts Abschließendes sagen, da noch bei keinem der Produkte die Reindarstellung der Giftsubstanz gelang. Immer erhielt man nur ölige Produkte, die keine Gewähr für Reinheit boten. Die Ansicht, daß es sich um ein flüchtiges Gift handle, ist jedenfalls jetzt beseitigt. Die flüchtige Toxicodendronsäure von Maisch gehört in das Reich der Fabel.

Unverkennbar ist immerhin die Aehnlichkeit der Wirkung zwischen Lackgift und Cardol, doch konnten wir beim Lackgift, z. B. nicht wie Gieseler beim Cardol, eine Verbreitung vom Entstehungs-orte aus beobachten. Die Wirkung blieb immer streng lokalisiert. Die verschiedene Empfindlichkeit der einzelnen Personen<sup>1)</sup> gegenüber dem Gifte scheint andererseits nur bei Rhusarten, nicht beim Cardol, beobachtet zu sein.

### Das Gummi (Lackgummi) und die Laccase.

Es wird zwar überall angegeben, daß der Japanlack „Gummi“ enthalte und Bertrand hat dies auch durch eine Reihe von Reaktionen wahrscheinlich gemacht. Immerhin mußte der vollgültige Beweis doch noch durch eingehendere Untersuchungen erbracht werden.

Zunächst sei bemerkt, daß es auf keine Weise gelingt das Gummi von der Oxydase<sup>2)</sup> quantitativ zu trennen. Die Angabe von Korschelt und Yoshida, daß das Enzym durch Kochen der wässerigen Lösung koaguliert werde und ausfalle, ist nicht richtig. Es wird nur inaktiv, aber fällt nicht aus. Auch alle anderen Versuche das Gummi vom Enzym quantitativ zu trennen, schlugen fehl<sup>3)</sup>. Ja es war nicht einmal möglich, den einen von den beiden Körpern rein zu erhalten unter Drangabe des zweiten. Wir hatten gehofft das Gummi dadurch rein zu erhalten, daß wir das Enzym zunächst zerstörten und das Umwandlungsprodukt dann abschieden. Zu dem Zwecke wurde die Substanz mit Eisessig, Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure verschiedener Stärke und bei verschiedenen Temperaturen behandelt. Kocht man z. B. die Substanz eine halbe Stunde mit verdünnter Schwefelsäure und fällt dann mit Alkohol aus, wäscht und trocknet, so gibt das Produkt auch jetzt noch die Pyrrolreaktion (s. unten). Auch die

<sup>1)</sup> Kunkel berichtet, daß ein Gärtner des botanischen Gartens in Würzburg ungestraft Rhus Toxicodendron anfassen könne, ein anderer aber bei jeder Berührung eine Hautentzündung bekomme. Bei einem Besuche der Heilpflanzenkulturen in Jenalöbnitz sagten mir die Kultivateure, daß die Blätter von Rhus Toxicodendron (dort „Roß“ genannt) nur mit Handschuhen gepflückt werden dürfen.

T.

<sup>2)</sup> Bertrand nennt das Gemisch von Gummi und Oxydase Laccase.

<sup>3)</sup> Vergl. Tschirch und Stevens; Pharm. Zentralh. 1905, No. 26.

fraktionierte Ausfällung, die von verschiedenen Autoren angegeben wird, und eine gute Trennungsmethode sein soll, führt nicht zum Ziel. Ebenso wenig gelingt es durch Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat und Natriumphosphat das Enzym zu entfernen, und auch Almén'sche Lösung bewirkt keine Trennung. Endlich wurde auch trockene Wärme ( $100-160^{\circ}$ ) angewendet, in der Annahme, daß der Eiweißkörper hierdurch vielleicht in eine unlösliche Verbindung übergeführt werden würde, und schließlich die vorher erhitzte Substanz mit Säure gekocht. Aber stets enthielt der ausgefällte Körper beide Substanzen: Gummi und Stickstoffsubstanz, ungefähr in den gleichen Proportionen wie im Ausgangsmaterial. Es gibt z. Z. keine Methode um das Gummi von dem Enzym zu trennen, und es liegt daher die Vermutung nahe, daß es sich hier um eine Verbindung der beiden Körper und nicht um ein Gemisch handelt.

Der Nachweis des Gummis war also nur auf indirektem Wege zu erbringen.

Der in Alkohol unlösliche Anteil des Japanlacks wurde mit Wasser behandelt und die filtrierte Lösung mit Alkohol gefällt. Die Fällung bildete getrocknet ein weißes Pulver. Dies Pulver — ein Gemisch von Gummi und Enzym — wurde auf dem Wasserbade mit dem Zwölffachen starker Salpetersäure oxydiert, dann das Ganze auf 2 T. eingedampft und 2 T. Wasser hinzugefügt. Nach 24 Stunden wurde der weiße krystallinische Niederschlag mit Alkohol und Wasser gewaschen und aus kochendem Wasser krystallisiert. Der Schmelzpunkt von  $210^{\circ}$  stimmt mit dem der Schleimsäure überein.

Die Analyse ergab:

0,222 gaben 0,1085  $H_2O$  und 0,2844  $CO_2$ .

Berechnet für  $C_6H_{10}O_8$ :

C = 34,48

34,278

H = 4,644

4,796.

Nachdem die Schleimsäure aus dem ersten krystallinischen Bodensatz mit heißem Wasser entfernt war, blieb ein weißes Pulver, unlöslich in heißem Wasser, Alkohol und Essigsäure, löslich in Salzsäure. Es war dies Calciumoxalat. Die Mutterlauge lieferte nach dem Eindampfen und Behandeln mit Aether Krystalle von Weinsäure, die durch ihre Krystallform, durch die Bildung von Weinstein bei Zusatz von Kaliacetat und den beim Verbrennen sich entwickelnden Karamelgeruch identifiziert wurde.

Nun wurde zur Hydrolyse geschritten.

Das Lackgummi wurde mit 2%iger Schwefelsäure am Rückflußkühler 8 Stunden erhitzt, dann die Schwefelsäure mit  $BaCO_3$  entfernt. Die Lösung wurde unter vermindertem Drucke verdampft. Es blieb

ein gelblicher Sirup zurück, der nicht krystallisierte, nicht vergor, Fehling'sche Lösung reduzierte und rechts drehte. Alkohol löste nur einen kleinen Teil. Der Rest löste sich in heißem Alkohol. Mit Phenylhydrazin erhitzt, entstand ein reichlicher gelber Niederschlag, der aus Alkohol umkrystallisiert bei  $162-164^{\circ}$  ohne Gasentwicklung schmolz. Die Krystallnadeln bildeten Drusen. Der Körper war also r-Sorbinazon (Sorbososazon). Die Mutterlauge lieferte Krystalle vom Schmp.  $157^{\circ}$ . (Beim Schmelzen entwickelte sich Gas.) Das würde auf r+1-Sorbinazon (Sorbososazon) stimmen<sup>1)</sup>.

Nach der Methode von Tollens erhitzt, liefert das Lackgummi Furfural.

Die Analyse des Gummi-Laccasegemisches ergab folgende Zahlen:

|        |       |        |                  |        |        |                   |
|--------|-------|--------|------------------|--------|--------|-------------------|
| 0,2626 | gaben | 0,1424 | H <sub>2</sub> O | und    | 0,402  | CO <sub>2</sub> . |
| 0,3464 | "     | 0,1812 | "                | "      | 0,529  | "                 |
|        |       |        |                  |        | Mittel |                   |
| C      | =     | 41,742 | 41,645           | 41,693 |        |                   |
| H      | =     | 6,067  | 5,581            | 5,958  |        |                   |
| N      | =     | 0,630  | 0,587            | 0,608  |        |                   |
| Asche  | =     | 5,180  | 5,200            | 5,190. |        |                   |

Bertrand fand  $0,44\%$  N in dem „Gummi“. Er bestimmte den Stickstoff durch Erhitzen mit Natronkalk und Titrieren des Destillates mit Schwefelsäure. Er nimmt an, daß sich bei der Destillation Ammoniak entwickelt und stellt darnach die Berechnung an. Das ist aber nicht richtig. Wir haben nämlich gefunden, daß sich beim Erhitzen der trockenen Substanz mit festem Alkalihydrat nicht Ammoniak, sondern Pyrrol entwickelt<sup>2)</sup>.

Es zeigte sich, daß auf die gewöhnliche Art in der Laccase-Gummimischung der Stickstoff nicht nachzuweisen war. Sowohl die Methode Lassaigue wie ihre Modifikation von Kehler liefern negative Resultate. Erhitzt man die Substanz mit trockenem Aetzkali und bringt über die Mündung des Probierzylinders ein Stückchen rotes Lackmuspapier, so färbt sich dieses blau und ein mit Salzsäure befeuchteter Fichtenspan rot. Das Gas riecht nicht nach Ammoniak, sondern nach Pyrrol. Destilliert man dann eine etwas größere Menge der Substanz mit gepulvertem Aetzkali, so erhält man ein Destillat, das alle Reaktionen des Pyrrols gibt. Wird z. B. die Lösung mit

<sup>1)</sup> In der Tabelle der Osazone, die Aloys Muther zusammengestellt hat (Göttingen, Vandenhoeck und Ruprecht, 1903), ist  $164^{\circ}$  resp.  $159^{\circ}$  angegeben. Bei  $163-164^{\circ}$  schmilzt auch l- und d-Erythrososazon, bei  $158-160^{\circ}$  l-Xylososazon, bei  $158-159^{\circ}$  Fucososazon, bei  $156-159^{\circ}$   $\beta$ -Acrososazon und die Gulososazone, bei  $158-160^{\circ}$  l-Arabinososazon.

<sup>2)</sup> Pharm. Zentralh. 1905, No. 26.

Salzsäure erwärmt und einige Zeit stehen gelassen, so bildet sich ein feiner roter Niederschlag. Phosphormolybdänsäure erzeugt eine gelbe Fällung, die rasch blau wird. Mit verdünnter Schwefelsäure und Chinon bildet sich ein grüner Niederschlag, Chinon allein erzeugt eine violettrote Farbe, Blutlaugensalz einen dunkelgrünen Niederschlag.

Damit ist erwiesen, daß die Substanz mit Kali Pyrrol entwickelt, also Stickstoff enthält.

Man kann den Stickstoff aber auch auf die Weise nachweisen, daß man die Substanz im Verbrennungsrohre im Schiffchen in einem Sauerstoffstrome erhitzt, nachdem vor die Substanz nur Kupferoxyd, aber keine Kupferspirale in die Röhre eingeführt wurde. Legt man einen mit völlig nitratreier Natronlauge beschickten Kallapparat vor, so lassen sich die gebildeten Stickstoffsauerstoffverbindungen leicht in der üblichen Weise (mit Diphenylamin, Brucin, Ferrosulfat) nachweisen.

Zinkstaub eignet sich nicht zu dem Nachweis von Stickstoff. Die Gründe sind von uns an anderer Stelle<sup>1)</sup> erörtert worden.

Die Oxydase, das oxydierende Ferment des Japanlackes, ist noch nicht in reiner Form erhalten worden. Sie teilt dies Schicksal aber mit allen übrigen Enzymen. Denn ein chemisch reines Enzym hat noch niemand in Händen gehabt. Man begnügte sich meist mit sogenannter physiologischer Reinheit. Im Japanlack wird das Enzym von einer Gummisubstanz begleitet, von der es, wie wir oben sahen, quantitativ nicht zu trennen ist. Es ist nun bemerkenswert, daß auch bei anderen Enzymen gummiartige Substanzen als Begleiter angetroffen wurden, die von den Enzymen nicht zu trennen waren. So berichteten Bach und Chodat<sup>2)</sup>, daß die von ihnen aus Pflanzen dargestellten Oxydase- und Oxygenase-Präparate stets reichliche Mengen von gummiartigen Substanzen enthielten. Auch Cazeu<sup>3)</sup> erhielt die Oxydase des Weines als gummiartige Masse. Ob dies nun daher rührt, daß alle gummiartigen Substanzen wie die Enzyme durch Alkohol fällbar sind, also immer beide zugleich ausgefällt werden, oder ob hier wirklich eine Verbindung zwischen Enzym und Gummi vorliegt, muß durch weitere Untersuchungen aufgeklärt werden. Eine Beziehung zwischen der Menge des Enzyms und der des Gummis konnte von uns nicht aufgefunden werden. Die Reaktion auf Guajak tinktur tritt bei den einzelnen Objekten in sehr verschiedener Stärke ein. Man hat eher den Eindruck, daß das Enzym eine Beimengung des Gummis ist.

<sup>1)</sup> Pharm. Zentralh. 1905.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 1904, S. 36.

<sup>3)</sup> Compt. rendus 124 (1897), 406 u. 781.



Durch eine große Zahl von Untersuchungen ist jetzt nachgewiesen, daß die Oxydasen ganz allgemein verbreitete Bestandteile des Pflanzen- und Tierkörpers sind. Zu ihrem Nachweise bedient man sich gewöhnlich der Guajak tinktur, die durch Oxydasen gebläut wird und des Tetramethyl-p-phenylendiamins und Paraphenylendiamins (Wurster), die violett gefärbt werden; dann der Abscheidung des Jods als Jodkalistärke, der Abscheidung von Sauerstoff aus Hydroperoxyd, der Oxydation des Pyrogallols zu Galloporpurin und des Hydrochinons zu Chinon, ferner der Rotfärbung des Anilinacetates und der Blau-Violett-färbung des  $\alpha$ -Naphthols<sup>1)</sup>, sowie der Indophenolprobe (Röhm ann und Spitz'er)<sup>2)</sup> und der Oxydation des Phenolphthalins zu Phenolphthalein (Kastle und Shedd).

Bei einigen Oxydasen treten die Farbenreaktionen direkt ein, bei anderen erst auf Zusatz von Hydroperoxyd ( $H_2O_2$ ).

Dann ist auch ihre oxydierende Wirkung gegenüber Aldehyden (z. B. Salicylaldehyd, Benzaldehyd, Formaldehyd), Alkoholen (z. B. Methylalkohol, Benzylalkohol, Zucker), Phenolen, Acetonen und Harnsäure zum Nachweise benutzt worden.

Man unterschied demnach zwischen Alkoholasen, Aldehydasen (z. B. die „Salicylase“ von Ab elous und Biarnés) Phenolasen. Zu letzteren würde die Laccase gehören.

Jedenfalls ist es nötig, die Reaktionen der Oxydasen einem vergleichenden Studium zu unterwerfen. Es muß festgestellt werden, welche Reaktionen von allen, welche nur von einigen wenigen gegeben werden. Erst dann wird sich über die wahrscheinliche Identität oder Nichtidentität der einzelnen Oxydasen etwas Sicheres aussagen lassen. Aso<sup>3)</sup> hat einen Anfang damit gemacht. Erschwert wird aber dieser Weg dadurch, daß oftmals mehrere Oxydasen neben einander vorkommen.

Die ersten, welche die Blaufärbung der Guajak tinktur durch Gummi arabicum beobachteten, waren Götting<sup>4)</sup> und Boulay<sup>5)</sup>. Kurze Zeit darauf fand Planche<sup>6)</sup>, daß auch frische Meerrettigwurzel, und Taddey<sup>7)</sup> und Rudolphi, daß Getreidemehl die gleiche Bläunung hervorruft. Rudolphi erkannte, daß die Wirkung durch das „Gluten“ hervorgebracht wird bei

<sup>1)</sup> Die letzten beiden Reaktionen beschrieb Bourquelot, C. r. 123 (1896), 315.

<sup>2)</sup>  $\alpha$ -Naphthol + p-Phenylendiamin +  $Na_2CO_3$ .

<sup>3)</sup> Bull. Coll. Agric. Tokio, 5, S. 207.

<sup>4)</sup> Nach Manuale der Pharm. in Bull. de pharm. I, p. 220, (1809).

<sup>5)</sup> Bull. de pharm. I, p. 225, (1809).

<sup>6)</sup> Ebenda II, p. 579, (1810).

<sup>7)</sup> Giornale di Fisic. Chim. 1819.

Gegenwart von Luft, und Wollaston<sup>1)</sup> und Brande<sup>2)</sup> erklärten dementsprechend die Reaktion für eine Oxydation. Planche, dem wir die ausführlichsten Untersuchungen über den Gegenstand verdanken<sup>3)</sup>, fand, daß auch schweflige Säure die Färbung hervorbringt, und daß die Reaktion ausbleibt, wenn man die Flüssigkeit kocht. Er erhielt die Bläuung bei den frischen Wurzeln von mehr als 25 verschiedenen Pflanzen. Er führte die Erscheinung auf ein Cyanogen zurück, das in den Pflanzen enthalten ist, das aber beim Erwärmen neue Verbindungen eingeht, die die Bläuung nicht zeigen. Er ist nicht der Ansicht, daß es sich um eine Oxydationswirkung handelt. Bald darauf fand Pagenstecher<sup>4)</sup>, daß Guajak auch durch Blausäure und Kupfersalze gebläut wird, Lebreton<sup>5)</sup>, daß die gleiche Färbung durch Jodtinktur und Jodsalze, Regimbeau<sup>6)</sup>, daß sie auch durch Quecksilberchlorid und Seife, durch Chlor, Brom und Jod, Lodibert<sup>7)</sup>, daß sie durch Alkalien und Speichel, Schiff<sup>8)</sup>, daß sie durch Salpetersäure hervorgebracht wird.

Schönbein<sup>9)</sup>, der mit frischen Pflanzensäften operierte, dachte sich den bei der Reaktion sich abspielenden Vorgang als einen katalytischen, bei dem Sauerstoff durch den Pflanzensaft in ein Gemisch von Antozon und Ozon verwandelt wird, die Wirkung auf Guajak als eine Ozonwirkung. Den blauen Körper betrachtet er als ein Ozonid<sup>10)</sup>. Schönbein führte diese Erscheinungen bereits auf ein oxydierendes Ferment zurück. Er ist also als der Entdecker der pflanzlichen Oxydasen zu betrachten (obwohl Bertrand ihm dies Verdienst abstreitet)<sup>11)</sup>. „Man darf wohl behaupten“, sagt Czapek, „daß diesem Forscher bereits alle wichtigen Grundtatsachen bekannt waren, welche heute unsere

1) Philosoph. Mag.

2) Philosoph. Mag. 1806, p. 89.

3) Journ. de pharm. VI, 1820, p. 16.

4) Journ. de pharm. VI, 1820, p. 241.

5) Ebenda XII, 1826, p. 374.

6) Ebenda XIV, 1828, p. 629 und Liebig's Ann. III, 1859, p. 372.

7) Journ. de pharm. XV, 1829, p. 14.

8) Liebig's Ann. III, 1859, p. 372.

9) Journ. f. prakt. Chem. 105, 1868, S. 198.

10) Vergl. auch Schaer in Wittstein's Vierteljahresschr. f. prakt. Pharm. 1869.

11) Ann. chim. phys. 7, ser. XII (1897), p. 119. Die Arbeiten Schönbein's, die hier besonders in Betracht kommen, hat Schaer (Vierteljahrschr. d. Naturf., Ges. Zürich, 1896) zusammengestellt. Es sind: Ueber einige chem. Wirkungen d. Kartoffeln, Poggend. Ann. 75 (1848). Ber. d. Basel. Naturf.-Ges. VIII, 13. Ueber d. Ursache der Selbstbläuung einiger Pilze, J. f. prakt. Chem. 67. Verh. d. Basel. Naturf.-Ges. I, 339 (1855). Ueber Sauerstofferreger und Sauerstoffträger in d. Pflanzenwelt. Vierordt's Arch. f. phys. Heilkunde 1856. Ueber die katalyt. Wirkungen organ. Materien und deren Verbreit. in der Pflanzen- u. Tierwelt, J. f. prakt. Chem. 89 (1863). Verh. der Basel. Naturf.-Ges. III, 697. Ueber das Vorkommen d. tätigen Sauerstoffs in organ. Mater. Verh. d. Basel. Naturf.-Ges. V., Zeitschr. f. Biologie III (1867). Ueber einige chem. Eigensch. d. Pflanzensamen. Verh. d. Basel. Naturf.-Ges. 1868. Schaer

Kenntnisse von dem Mechanismus der Oxydation im lebenden Organismus begründen.“ Es ist Schaer's Verdienst, immer von neuem auf die Bedeutung der Schönbein'schen Arbeiten hingewiesen zu haben. Struve<sup>1)</sup> fand dann, daß Gummi arabicum auch Pyrogallol in Purpurogallin überführt, und de Clermont und Chautard<sup>2)</sup>, die sich dieser Reaktion zur Darstellung des Purpurogallins bedienten, führten sie auf ein lösliches Ferment zurück. Der Name oxydierendes Ferment war bereits von Traube<sup>3)</sup> eingeführt worden, der der Entdecker der tierischen Oxydasen ist<sup>4)</sup>, der auch zuerst den Lehrsatz aufstellte<sup>5)</sup>, daß die Oxydation in der lebenden Zelle durch Bildung kleiner Mengen von  $H_2O_2$  eingeleitet werde (Traubes Peroxydhypothese) und der schon 1858 erkannte, daß zahlreiche Fermente die Fähigkeit besitzen freien Luftsauerstoff aufzunehmen und ihn an andere Stoffe zu übertragen, sie zu oxydieren.

Yoshida<sup>6)</sup> führte dann die Schwärzung des japanischen Lacks auf ein lösliches, oxydierendes Ferment zurück. Ebenso Lindet<sup>7)</sup> die Färbung des Cider und Bertrand<sup>8)</sup> zeigte, daß in dem Japanlack in der Tat ein lösliches, oxydierendes Ferment enthalten ist, die Laccase, die dann auch in vielen anderen Pflanzen, besonders Pilzen<sup>9)</sup> (Pilzlaccase), aufgefunden wurde. Eine Antilaccase beschrieb Gessard<sup>10)</sup>.

gibt (a. a. O.) eine Uebersicht über die Ergebnisse der Schönbein'schen Arbeiten. Am meisten kommt hier wohl in Betracht die Arbeit Schönbein's, über die katalytische Wirksamkeit organischer Materien und deren Verbreitung in der Pflanzen- und Tierwelt. Sitzungsber. d. Münchener Akad. 1863, II, 93.

In dem Schreiben, welches die Uebersendung dieser Arbeit an Liebig begleitet (vom 19. Mai 1863) finden sich die denkwürdigen Worte: „So weit ich bis jetzt sehe und meine Versuche gehen, muß ich glauben, daß Pasteur sich im Irrtum befinde, wenn er gewissen Organismen als solchen eine fermentartige Wirkung beimißt. Nach meinem Dafürhalten ist das Morphologische in dieser Frage von nur untergeordneter Bedeutung und sind es die während der Ausbildung besagter Organismen entstehenden katalytisch wirksamen Materien, welche verändernd auf das stoffliche Medium einwirken, in dem der Organisationsakt stattfindet.“

<sup>1)</sup> Lieb. Ann. 163, 1872, S. 160.

<sup>2)</sup> Compt. rend. 94, 1882, p. 1254.

<sup>3)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. (1877), 10, 1985; vergl. auch Theorie d. Fermentwirkung. Berlin 1858.

<sup>4)</sup> Der Ausdruck Enzym rührt von Kühne her (Unters. d. physiolog. Inst. Heidelberg 1878).

<sup>5)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. (1882) 15, 2422, ferner ebenda 16 (1883), 17 (1884) und 22 (1889).

<sup>6)</sup> Journ. chem. soc. 43, 1883, p. 472.

<sup>7)</sup> Le Cidre 1893, p. 150.

<sup>8)</sup> Compt. rend. 121, 166 (1895). Ann. chim. phys. 7 ser. XII, 1897, p. 115.

<sup>9)</sup> Bourquelot et Bertrand Journ. de pharm. (1896), 6 ser. III, p. 97 u. 177. Compt. rend. 121 (1895), p. 783, 123 (1896).

<sup>10)</sup> Compt. rend. soc. biol. 1903.

Mittlerweile waren auch die Tierphysiologen auf die oxydierenden Fermente aufmerksam geworden. Schmiedeberg<sup>1)</sup>, Jacquet<sup>2)</sup>, Hofmeister<sup>3)</sup>, Röhmann und Spitzer<sup>4)</sup>, Jacobson<sup>5)</sup>, Lepinois<sup>6)</sup> u. a. studierten ihre Wirkung. Laccase fand sich z. B. in der Leber (Jacoby<sup>7)</sup>, Abelous et Biarnés), die nach Salkowski, der gleichzeitig mit Schmiedeberg 1882 die oxydierende Wirkung des Blutes erkannte<sup>8)</sup>, der Hauptsitz der Oxydasen ist. Aber auch in allen tierischen Geweben und Sekreten (im Sekret der Nasenschleimhaut, im Eiter, Speichel) finden sich diese Substanzen.

Die pflanzlichen Oxydasen sind in neuerer Zeit zunächst besonders von Bertrand und Bourquelot studiert worden. Bertrand führt die oxydierende Wirkung der Laccase auf ihren Mangangehalt zurück<sup>15)</sup>. Manganarme Laccase wirkt schwach, kann aber durch Zusatz von Mangansalzen (besonders Lactat und Succinat) stark wirksam gemacht werden. Bertrand betrachtet die Oxydasen daher als leicht dissoziierbare Mangan-Eiweißverbindungen, die Mn in Oxydulform enthalten.

Nicht mit der Laccase identisch ist die Oxydase, welche Bertrand<sup>10)</sup> Tyrosinase nennt, und die er und Bourquelot in Pilzen<sup>11)</sup>, im Rübensaft, in den Kartoffeln, Dahlien etc. auffand, und die auch im Tierreich weit verbreitet ist (Gessard, Cotte, Fürth). Ein ähnliches Enzym ist die Oenoxydase Tolomeis<sup>12)</sup>, die zuerst Martinaud<sup>13)</sup> und Gouiraud<sup>14)</sup> als die Ursache der Oxydation des Weinfarbstoffes erkannten, und die außer in den Weintrauben<sup>15)</sup>, wohl auch in Äpfeln, Birnen und Pflaumen vorkommt.

<sup>1)</sup> Arch. exper. Path. 6, 233 (1876), 14, 288 (1881).

<sup>2)</sup> Mém. soc. biol. 41, 1892, p. 56. Arch. exper. Path. 29, 386 (1892).

<sup>3)</sup> Die chemische Organisation d. Zelle. Braunsch. 1901.

<sup>4)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 1895, 567. Pflüg. Arch. 60, 303 und 67 (1897) u. (1899) 192. Berl. klin. Wochenschr. 42 (1894), 949.

<sup>5)</sup> Zeitschr. physiolog. Chem. 16, S. 340.

<sup>6)</sup> Compt. rend. soc. biolog. 1899. Aeltere Literatur: Flügge, Mikroorganismen, Epstein, Arch. Hyg. 36, S. 140. Babcock und Russell, Zentrbl. f. Bakter. II Abt. 6. Bergengrün, Wechselwirk. zwischen Wasserstoff-superoxyd und verschied. Protoplasmaformen, Dorpat 1888.

<sup>7)</sup> Virch. Arch. 157 (1899), 235.

<sup>8)</sup> Zeitschr. phys. Chem. 7, 115.

<sup>9)</sup> Compt. rendus 124, 1335.

<sup>10)</sup> Compt. rendus 122 (1896), 1215 und 123 (1896), 463.

<sup>11)</sup> Compt. rend. soc. biol. 1895.

<sup>12)</sup> Real. Akad. linc. (1896), 5, 52.

<sup>13)</sup> Compt. rendus (1897), 124, 517.

<sup>14)</sup> Compt. rendus (1895), 120, 877.

<sup>15)</sup> Cornu, Journ. pharm. et chim. 1899.

Loew's Katalase<sup>1)</sup>, die durch die Fähigkeit ausgezeichnet ist, aus  $H_2O_2$  Sauerstoff in Freiheit zu setzen, ist mit der Laccase Bertrands und den Oxydasen und Peroxydasen von Bach und Chodat nicht identisch. Loew, der übrigens zwei Katalasen ( $\alpha$  und  $\beta$ ) unterscheidet, fand sie zuerst im Tabak, dann in zahllosen anderen Pflanzen. Sie findet sich wahrscheinlich in allen lebenden Zellen, und ist identisch mit Raudnitz' „Superoxydase“. Raudnitz ist also ihr eigentlicher Entdecker. Das Enzym der Milch<sup>2)</sup> soll auch Katalase sein<sup>3)</sup>, ebenso das Philothion von Rey-Pailharde<sup>4)</sup>. Kobert und Werner<sup>5)</sup> fanden Katalase — neben Oxydase und Peroxydase — in der lebenden Substanz wirbelloser Tiere. Löwenstein<sup>6)</sup> in Bakterienfiltraten und Batteli und Stern<sup>7)</sup> bestimmten sie quantitativ in Leber, Niere, Blut, Herz, Lunge, Milz, Muskel und Gehirn. Pozzi-Escot vertritt die Ansicht<sup>8)</sup>, daß es nicht zwei Katalasen, eine in Wasser lösliche und eine unlösliche gibt, wie Loew meint, sondern daß die unlösliche ( $\alpha$ ) durch Adsorption von anderen Substanzen festgehaltene lösliche ( $\beta$ ) Katalase sei.

Daß Katalase nicht mit Laccase und anderen Oxydasen identisch ist, geht daraus hervor, daß man die O abscheidende Kraft eines Enzymgemisches aufheben kann, ohne die spezifische Fermentwirkung zu beeinträchtigen<sup>9)</sup>. Uebrigens bläut Katalase nicht Guajak, bildet aber Chinon aus Hydrochinon. Sie wird von  $HgCl_2$  gefällt, Spuren von Alkalien befördern ihre Wirkung, Säuren töten sie ab, Alkohol schädigt sie nicht.

Eine andere, ebenfalls weit verbreitete Oxydase ist die Peroxydase<sup>10)</sup>, welche das Oxydationsvermögen der eigentlichen Oxydase erhöht, sie aktiviert. Ueber diese berichteten besonders Bach und Chodat, welche über die Rolle, die die Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle spielen, systematische Versuche angestellt und eine

1) O. Loew, Catalase a new enzym of general occurence U. S. Dep. of agriculture Rep. 68, 1901.

2) Raudnitz, Z. f. Biolog. 40, 91.

3) Ebenda 43, 256.

4) Pozzi-Escot, Bull. Soc. chim. (3), 27, 280 (1902). Bach und Chodat sind dagegen der Ansicht, daß Katalase nicht mit Reduktase identisch ist (Ber. d. d. chem. Ges. 36.) Es gibt reduktasefreie Katalase.

5) Pflüger's Archiv 99, 116.

6) Münch. med. Wochenschr. 50.

7) Compt. rendus 138, 123.

8) Zentralbl. f. Bakt. II, 10, 177 (1903).

9) Jacobson, Z. phys. Chem. (1892), 16, 340. Raudnitz, Zentrbl. f. Physiol. (1898), 12, 790.

10) Der Name rührt von Linossier (C. r. soc. biol. 5, 373, 1898) her.

Theorie aufgestellt haben<sup>1)</sup>. Sie suchten dem verwickelten Problem der Oxydationsfermente auf einem anderen Wege beizukommen.

Gleichzeitig mit Bach<sup>2)</sup> stellten übrigens auch Engler und Wild<sup>3)</sup> eine Peroxydtheorie auf. Auch sie nehmen zur Erklärung der langsamen Oxydation in der Zelle an, daß als primäre Oxydationsprodukte Peroxyde vom Typus  $H_2O_2$  entstehen.

Die Peroxydanpassung der Zelle gestaltet sich nach Bach und Chodat als eine Fähigkeit, durch die Vermittlung von Diastasen einerseits  $H_2O_2$  katalytisch zu zersetzen, andererseits dasselbe zu aktivieren. Die betr. Diastasen sind die Katalase und die Peroxydase. Die primär entstehenden Peroxyde werden in der Zelle 1) als eigentliche Oxydationsmittel für schwer oxydierbare Bestandteile der Zelle, 2) als Ueberführer von chemischer Energie in Wärme benutzt. Der Sauerstoff, der zur Verbrennung erforderlich ist, wird also unter intermediärer Bildung von Peroxyden aktiviert. Die Oxydasen sind nun solche peroxydartigen Verbindungen<sup>4)</sup>, die sich in lebenden Zellen finden und die auf Guajak, Jodstärke und Tetrapapier reagieren. Bach und Chodat erhielten aus *Russula* und *Lactarius* eine Oxydase, die sowohl Guajak bläut, aus Pyrogallol Galloppurpurin und aus Hydrochinon Chinon bildet, als auch aus Jodkali Jod abscheidet<sup>5)</sup>; — aus Kürbisfrüchten dagegen eine Peroxydase, die das Oxydationsvermögen der *Lactarius*-Oxydase in derselben Weise wie dasjenige des  $H_2O_2$  erhöht. Die *Lactarius*-Oxydase hat die Fähigkeit, durch Kürbis-Peroxydase in genau derselben Weise wie  $H_2O_2$  aktiviert zu werden. Das Vorkommen von fermentartigen Körpern, welche  $H_2O_2$  und bei der Luftoxydation von organischen Materialien entstehende Peroxyde in ähnlicher Weise wie dies Ferrosalze tun,

---

1) Bach und Chodat, Unters. über die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle. Ueber Peroxydbildung in d. lebenden Zelle. Ber. d. d. chem. Ges. 35, 2466. Oxydationsfermente als peroxyderzeugende Körper. Ebenda 35, 3943. Ueber Peroxydase. Ebenda 36, 600. Zerlegung des sog. Oxydasen in Oxygenasen und Peroxydasen. Ebenda 36, 606. Ueber Katalase. Ebenda 36, 1756. Einiges über die chem. Natur der Oxydasen. Ebenda 37, 36. Ueber die Wirkungsweise der Peroxydase. Ebenda 37, 1342. Geschwindigkeit der Peroxydasereaktion. Ebenda 37, 2434, und Bach, ebenda 38, 1878. Vergl. auch Oppenheimer, die Fermente 1904. Senter, Zeitschr. phys. Chem. 44. Henry, Lois générales de l'action des diastases. Paris. 1903.

2) Compt. rend. 124, 951.

3) Ber. d. d. chem. Ges. 30 (1897), 1669.

4) Bach, C. r. 124, 954. Kastle und Loewenhardt, Amer. Chem. Journ. 26, 539 (1901), Engler und Wöhler, Ztschr. anorg. Chem. 29 (1902).

5) Bach und Chodat sind also der Ansicht, daß ein und dieselbe Substanz Guajak bläut und Jod abscheidet. Gegen diese Auffassung wendet sich Aso (Bull. Coll. Agr., Tokio V; Chem. Zentrbl. 1902, II, 1418, 1903, II, 674 und 1249, 1905, I, 1476), der wohl die Guajakreaktion auf Oxydasen, die Jodreaktion aber auf die Acidität des Zellsaftes bei Gegenwart von Aminoverbindungen und Nitriten zurückführt.

aktivieren, wurde übrigens schon 1856 von Schönbein<sup>1)</sup> festgestellt, der also als der Entdecker auch der Peroxydasen zu betrachten ist.

Die Oxydasen können von den Peroxydasen getrennt werden 1) durch Erhitzen auf 70° (Oxydasen werden getötet, Peroxydasen nur abgeschwächt), 2) durch fraktionierte Fällung mit Alkohol (Peroxydasen sind darin relativ löslich), 3) durch Vergiften der Oxydasen mit NaF. Doch enthalten Kürbisfrucht und Meerrettigwurzel ziemlich reine Peroxydase. Durch einmaliges Erhitzen wird die spezifische Wirkung der Peroxydase aufgehoben. Sie kehrt aber nach einigen Stunden wieder, zweimaliges Erhitzen tötet die Peroxydase ab. Peroxydase besitzt in Abwesenheit von Peroxyden nicht die mindeste oxydierende Wirkung.

Bach und Chodat fällten dann die Oxydasen mit Alkohol. Die schwach oxydierende Fraktion, die als Sauerstoffüberträger funktioniert, indem sie den molekularen Sauerstoff unter Peroxydbildung aufnimmt, nennen sie Oxygenase, die nicht oxydierende, Peroxyd aktivierende Fraktion Peroxydase. Die Trennung ist jedoch nicht quantitativ: völlig peroxydasefreie Oxygenase ist nicht zu erhalten. Es scheint mindestens zwei Peroxydasen zu geben, die eine aktiviert stark Oxygenasen und schwach  $H_2O_2$ , die andere umgekehrt. Während sich zur Darstellung der Katalase tierische Gewebe (z. B. Rinderfett) am besten eignen, kann man Peroxydase am reinsten aus Meerrettigwurzel erhalten. Derartige Peroxydase ist frei von

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| Oxygenase . . . . .               | denn sie oxydiert nicht Pyrogallol  |
| Katalase . . . . .                | „ „ macht aus $H_2O_2$ keinen O frei.   |
| Amylase . . . . .                 | „ „ verflüssigt Kleister nicht und bildet keine Fehling reduzierenden Substanzen. |
| Invertase . . . . .               | „ „ invertiert nicht Rohrzucker.  |
| Emulsin . . . . .                 | „ „ zerlegt nicht Amygdalin.  |
| proteolytischen Enzymen . . . . . | „ „ greift koaguliertes Eiweiß nicht an.  |

Grüß<sup>2)</sup> hält die Peroxydase für das Reversionsenzym der Oxydase, ähnlich den reversiblen Enzymen Croft Hills.

Chodat und Bach, deren Untersuchungen, wie man sieht, an die Hypothese Traubes (s. oben) anknüpfen, haben also gezeigt, daß die oxydierenden Fermente organische Peroxyde sind, aktiviert durch einen Katalysator, die Peroxydase. Sie fanden Peroxyde in der lebenden Zelle und konnten ein konstantes Verhältnis zwischen der Menge des Peroxyds, der Substanz, die es aktiviert und dem Produkte der Oxydation feststellen. Die Fermente verhalten sich wie organische Katalysatoren.

Wender<sup>3)</sup> denkt sich den Vorgang bei der Wirkung der Oxydasen so, daß „der in die Zellen eindringende Sauerstoff von der Aërooxydase zur Oxydation leicht oxydierbarer Körper verwendet wird, daß sich bei dieser Oxydation intermediär Peroxyde bilden, die dann wieder durch die

1) Abh. Münch. Akad. 8 (1856), 38, 406; Verh. Nat.-Ges. Basel, I.

2) Ber. d. d. bot. Ges. 21, 356.

3) Chem.-Ztg. 26, 1217.

Katalase zerlegt werden. Der frei gewordene Sauerstoff wird durch die Anaërooxydase (Peroxydase) aktiviert und zur Oxydation schwer oxydierbarer Substanzen verwendet“

Wieweit die Oxydasen, die Pfeffer<sup>1)</sup> in *Monotropa* und *Vicia*, Schaer<sup>2)</sup> in *Phytolacca decandra*, Kosmann<sup>3)</sup> in *Digitalis*blättern, Laborde<sup>4)</sup> in *Belladonna*- und *Aconit*blättern und *Botrytis cinerea*, Lépineis<sup>5)</sup> in *Aconit*- und *Belladonnawurzel*, Bréaudat<sup>6)</sup> im Indigo, Sarthou<sup>7)</sup> in der Rinde von *Schinus molle* („Schinoxydase“ eine Fe-haltige Aëroxydase), Carles<sup>8)</sup> in frischer *Baldrianwurzel*, Hunger<sup>9)</sup> in *Kokosmilch* und *Zuckerrohr*, Aso<sup>10)</sup> in den frischen Blättern der *Teepflanze*, Issajew<sup>11)</sup> im *Malz*, C. O. Weber<sup>12)</sup> in dem *Milchsafte* von *Castilleja elastica*, Buchner, Effront, Tolomei und Größ<sup>13)</sup> in der *Hefe*, Größ im *Embryo* der *Rohgerste* („Spermase“), Vadam<sup>14)</sup> in *Stengeln* und *Blättern* von *Helleborus*, Wender<sup>15)</sup> in *Lintners Diastase*, Hahn<sup>16)</sup> im *Safte* von *Arum maculatum*, Boutraux<sup>17)</sup> im *Zwieback* („Oxydin“), Tolomei<sup>18)</sup> im *Fleische* der *Oliven* („Oleaze“), Khouri<sup>19)</sup> in den *Blättern* von *Corchorus*, Raciborski<sup>20)</sup> in den *Siebröhren* („Leptomin“), Aso und Sawamura<sup>21)</sup> in den *Kakifrüchten* fanden, unter einander verwandt oder z. T. mit einander identisch sind, bleibt zu untersuchen. Einige ähneln der *Laccase*, andere den *Aminoxydasen*,

1) Abhandl. Sächs. Ges. d. Wissensch. 1889, S. 409 u. 448.

2) Ztschr. f. Biol. 1899 und Vierteljahrsschr. d. Naturf.-Ges. Zürich 1896.

3) Journ. ph. et chim. (4), XII, 335 u. 420.

4) Compt. rend. 126 (1898), 536.

5) Journ. pharm. chim. (6), IX, (1899), 49.

6) Compt. rend. 127 (1898), 769.

7) Journ. pharm. chim. (6), XI, 482 u. (6) XII, 104.

8) Ebenda (6), XII, 148.

9) Ber. d. d. bot. Ges. 19, 374. Hunger fand, daß Glukose die Guajakreaktion hindert, ebenso andere Reduktionsmittel.

10) Bull. Coll. Agric. 1901, 255.

11) Ztschr. physiolog. Chem. 45, 331.

12) Ber. d. d. chem. Ges. 36, 3108.

13) Wchschr. f. Brauerei 1901, 18, 310.

14) Botan. Jahresber. 1899.

15) Chem.-Ztg. 1902, S. 1222. Er fand darin eine Anaëroxydase mit den Eigenschaften der Katalase.

16) Ber. d. d. chem. Ges. (1900), 33, S. 3555.

17) Le pain, Paris.

18) Ber. d. d. chem. Ges. 29 (1896), III, 596.

19) Congr. intern. de pharm., Paris 1900.

20) Ber. d. d. bot. Ges. 1898.

21) Bot. Mag., Tokio 1900. Bull. Agric. Coll., Tokio 1902.



noch andere der Katalase, die meisten sind wohl Gemische, aber es mag unter ihnen wohl auch „spezifische Enzyme“ geben, die nur eine Reaktion auszulösen vermögen.

Die Lehre von der spezifischen Wirkung, der „Spezifität“ jedes einzelnen Enzyms hat durch die Untersuchungen von E. Fischer<sup>1)</sup> eine wichtige Stütze erhalten, sodaß man jetzt für gewöhnlich annimmt, daß ein und dasselbe Ferment nicht mehrere Wirkungen auszuüben vermag.

Sowohl bei den Pflanzen (besonders Pilzen) wie bei den Tieren (z. B. dem Tintenfisch)<sup>2)</sup> wird die Tyrosinase von Laccase begleitet und auch einige Emulsin führende Pflanzen enthalten neben Emulsin Laccase<sup>3)</sup>.

Sehr oft wird die Oxydase von einer Peroxydase begleitet, so in den Teeblättern<sup>4)</sup>, dem Malz<sup>5)</sup>. Daß im Zuckerrohre neben einer über 60° unbeständigen Oxydase eine beständigere, erst auf Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd Guajak bläuende Oxydase vorkommt, zeigte Raciborski<sup>6)</sup>. Ja wir dürfen jetzt wohl annehmen, daß die Fälle selten sind, wo nur eine Oxydase in der Pflanze vorkommt. Die Fälle dürften die Regel bilden, wo mehrere Oxydasen gleichzeitig sich finden.

Daß dies z. B. bei der Rinde der Roßkastanie der Fall ist, zeigte Neumann Wender<sup>7)</sup>. Die mit Alkohol extrahierte Rinde wurde mit Wasser perkoliert und das Perkolat mit Alkohol gefällt. Die Fällung enthielt 1. eine Oxydase, die Guajak bläute und bei 65° zerstört wurde, 2. eine Oxydase, die bei 65° beständig ist und Guajak auf Zusatz von  $H_2O_2$  bläut, 3. eine Oxydase, die aus  $H_2O_2$  Sauerstoff in Freiheit setzt, 4. Katalase, die bei 80–82° unwirksam wird, 5. Anaëro-oxydase, die erst bei 90° zerstört wird.

Dann aber dürfen wir nach den Erfahrungen, die beim Tier gemacht wurden, annehmen, daß die Oxydasen auch von anderen Enzymen begleitet werden. Sind doch z. B. in der Leberzelle wenigstens 8 Enzyme enthalten: eine Maltase, eine Glykase, ein proteolytisches, ein Nucleïne spaltendes Ferment, eine Aldehydase, eine Laccase, ein Ferment, das fest gebundenen Stickstoff der Amidosäuren in Ammoniak überführt, ein Fibrinferment und wahrscheinlich

1) Ber. d. d. chem. Ges. 1894 u. 1895 und Ztschr. phys. Chem. 1898.

2) Gessard, Compt. rend. 136, 631.

3) Bourquelot und Herissey, Journ. ph. chim. 1903.

4) Aso, Bull. Coll. of Agricult., Tokio, 4, 255, 1901.

5) Issajew, Ztschr. phys. Chem. 45, 331.

6) Ber. d. d. bot. Ges. (1898), 26, 52.

7) Chem.-Ztg. 26, 1217.

auch eine Lipase und ein labähnliches Ferment — wohl verstanden in derselben Zelle nebeneinander vorkommend<sup>1)</sup>).

Man hat natürlich versucht in die Fülle der Erscheinungen Ordnung zu bringen. Grüß<sup>2)</sup> unterscheidet zunächst zwei Gruppen von Oxydasen:

$\alpha$ -Oxydasen, die mit Guajak direkt reagieren (sollen durch Alkohol zerstört werden?).

Diese Gruppe zerfällt in zwei Untergruppen:

1. Oligo-Oxydase wird bei 50–55° unwirksam.

2. Pleo-Oxydase verträgt höhere Temperaturen.

$\beta$ -Oxydasen, die erst auf Zusatz von  $H_2O_2$  mit Guajak reagieren.

Hierher gehören: Leptomin, die Translokationsdiastase und Cytase<sup>3)</sup>.

Von dieser Gruppe eine Untergruppe bilden

die  $\gamma$ -Oxydasen, die beständig sind gegen heißen Alkohol.

Hierher gehören die Diastase keimender Gerste und das Enzym der Wundepidermis.

Grüß unterscheidet Gujakoxydasen (Laccase), die auf Guajak und Aminoxydasen, die auf Tetramethylparaphenylendiamin reagieren (Oxydase der Bierhefe und von Ustilago, Spermase).

Eine andere Einteilung machte Bourquelot. Er unterscheidet: Aëroxydasen, besitzen die Fähigkeit, den Sauerstoff der Luft auf oxydationsfähige Körper zu übertragen — sie bläuen Guajak — (z. B. Laccase) und Anaëroxydasen, die Guajak erst auf Zusatz von  $H_2O_2$  bläuen (z. B. Peroxydase). Man kann die letzteren als indirekte Oxydasen bezeichnen<sup>4)</sup>. Mit diesen Einteilungen ist jedoch nicht viel gewonnen.

Slowtzoff<sup>5)</sup> studierte Laccase aus Kartoffeln, die er durch Aussalzen mit Ammonsulfat, Dialysieren etc. reinigte. Er fand, daß sie 12,8% N und 0,53% S enthielt. Sie gab Eiweißreaktion. Sarthou<sup>6)</sup> rechnet seine Schinoxidase zu den Nucleinen. Sie enthielt 6,28% N und 0,201% S, sowie 1,336% Asche. Ob die Enzyme Eiweißkörper oder Nucleoproteine sind, ist noch nicht entschieden. Levene<sup>7)</sup> fand, daß das Trypsin wohl Proteinnatur zeige, aber keine Nucleoproteinreaktion gebe. Aso hält die Oxydasen für Albumosen. Bokorny<sup>8)</sup>

<sup>1)</sup> Hofmeister, Die chem. Organisation der Zelle, 1901, S. 15.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. bot. Ges. 1898, 26, 119.

<sup>3)</sup> Brown and Morris, Journ. Chem. Soc. 57 (1890), 497 und Reinitzer, Ztschr. phys. Chem. 1897.

<sup>4)</sup> Die indirekten Oxydasen führen aber zu den gleichen Endprodukten wie die direkten (Marchadier, Contr. à l'étude des ferm. solubl. oxydants indirects, Thèse, Paris 1905).

<sup>5)</sup> Ztschr. phys. Chem. 31, 227.

<sup>6)</sup> Journ. pharm. chim. (6), XIII, 464.

<sup>7)</sup> Journ. Am. Chem. Soc. 23, 505.

<sup>8)</sup> Allg. Brauer- und Hopfenzeitung 1901, No. 74.

bemerkt: „Man kann sich kaum dem Gedanken verschließen, daß Protoplasma und Enzym aus dem gleichen Stoffe bestehen“. Bach und Chodat<sup>1)</sup> erhielten bei Peroxydase keine Eiweißreaktion, bei Oxydase und Oxygenase nur sehr undeutliche. Pekelharing<sup>2)</sup> und Nencki<sup>3)</sup> stellten aber bekanntlich das Pepsin zu den Nucleoproteiden und Friedenthal<sup>4)</sup> und Spitzer<sup>5)</sup> rechnen alle Enzyme zu dieser Körperklasse. Loew<sup>6)</sup> dagegen zählt die Oxydase, die Peroxydase und die  $\beta$ -Katalase zu den Albumosen. Czapek<sup>7)</sup> bemerkt resumierend, daß man die Enzyme als „kolloide Katalysatoren“ betrachten könne, „welche wahrscheinlich zur Klasse der Eiweißsubstanzen in weitestem Sinne zuzuzählen sind“.

Die Ansicht von Landwehr und Hirschfeld<sup>8)</sup>, daß die Diastasen Kohlehydratnatur besitzen, hat keine Anerkennung gefunden, ist aber nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen, da in zahlreichen, seither isolierten Enzymen „Gummi“ gefunden wurde.

Am weitesten ging Arthus<sup>9)</sup>, der die Ansicht vertritt, daß Enzyme überhaupt keine Stoffe, sondern Eigenschaften seien.

Eine überraschende Wendung hat die ganze Oxydasenfrage durch die Untersuchungen von Trillat<sup>10)</sup> genommen. Schon weiter oben ist von den Ergebnissen der Bertrand'schen Studien die Rede gewesen, die zu dem Resultate führte, daß ein Mangangehalt<sup>11)</sup> wesentlich ist, um die Wirkung der Oxydasen zu stande kommen zu lassen. Trillat hat nun anknüpfend an die interessanten Untersuchungen über die „anorganischen Fermente“ das „metallische Ferment Mangan“ auf seine fermentativen Eigenschaften hin geprüft und gefunden, daß unendlich geringe Mengen Mn in Gegenwart einer Spur Alkali<sup>12)</sup> aktiv werden, daß, wie bei den organischen Fermenten, die Körpergifte

1) Ber. d. d. chem. Ges. 36 (1903), 600 u. 37 (1904), 36.

2) Ztschr. phys. Chem. 35 (1902).

3) Nencki und Sieber, ebenda 32 (1901).

4) Arch. f. Anat. Phys. 1900, 181.

5) Pflüg. Arch. 67 (615), 1897.

6) Agric. Dep. U. S. A., Rep. No. 68 (1901).

7) Biochemie S. 80.

8) Pflüg. Arch. 39, S. 499. Auch Fermi berichtete über N-freie Enzyme.

9) Zentralbl. f. Physiologie 1896, 10, 225.

10) Compt. rend. 137, p. 922; 138, p. 94 u. 274. Bull. soc. chim. (3), 31, 190.

11) Lépinois, Spitzer und Saccharoff schrieben eine gleiche Funktion auch dem Eisen zu.

12) Die Bedeutung des Alkalis für die Aktivierung ist frühzeitig erkannt worden. Hier wäre auch der interessanten Arbeiten Schaers (Dies. Arch. 1903) zu gedenken.

( $\text{As}_2\text{O}_3$ ,  $\text{HCN}$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ) auf die Reaktion hemmend wirken, und daß das Mn in Gegenwart einer Spur Alkali durch den Zusatz eines Eiweißkörpers (z. B. Hühnereiweiß, Gelatine, N-freie Kolloide) das Maximum seiner Wirkung als Sauerstoffüberträger erreicht. Eine solche Lösung von Mn (als Chlorür)  $\text{NaOH}$  und Gelatine verhält sich ganz wie die Lösung einer Oxydase. Sie bläut Guajak und ihre Wirkung wird durch Erhitzen aufgehoben. Doch erhält die Lösung mit der Zeit ihre Aktivität wieder.

Nach diesen Untersuchungen wäre also die chemische Natur des organischen Komplexes, an den das Mangan gebunden ist, ganz gleichgültig. Es muß nur kolloidalen Charakter tragen. (Wir konnten aber bei oxydasefreien kolloidalen Schleimen [z. B. Cydonia und Linum] durch Manganosuccinat keine Guajakbläuung erhalten.)

„Von einschneidender Bedeutung scheint ausschließlich der kolloidale Zustand der Enzyme zu sein“ bemerkt auch Czapek<sup>1)</sup>, und Hofmeister<sup>2)</sup> nennt die Fermente direkt „Katalysatoren von kolloidaler Beschaffenheit“. Jedenfalls spielen gewisse Metalle mindestens die Rolle von „Cofermenten“ (Bertrand) oder „Zymoexcitatoren“ (Bredig).

Daß bei der weiten Verbreitung der Oxydasen diese auch in die Auszüge der Pflanzen und Drogen übertreten, ist natürlich. Das „Reifen“ der Tinkturen wird bekanntlich z. T. auf Oxydasen zurückgeführt<sup>3)</sup> und Bourquelot hat daher vorgeschlagen, die Auszüge mit siedendem Alkohol zu machen, um diese nachträglichen Veränderungen auszuschließen<sup>4)</sup>.

Aber eine ganz besondere Rolle scheinen die Oxydasen (wohl neben hydrolytischen Fermenten)<sup>5)</sup> bei den Drogen selbst zu spielen. Das sogen. „Fermentieren“ gewisser Pflanzenprodukte — ich nenne besonders den Tee, den Kakao und die Vanille — drückt ja schon in dem Namen aus, daß der Produzent an die Beteiligung von Fermenten denkt. Bei dem Studium dieser Fermentierungsprozesse an Ort und

<sup>1)</sup> Biochemie d. Pflanzen I, 65.

<sup>2)</sup> Chem. Organisat. d. Zelle, S. 14.

<sup>3)</sup> Kunz-Krause, Pharm. Zentralh. 1902, No. 52.

<sup>4)</sup> Congr. intern. de médic., Paris 1900. Carles (Rep. de pharm. 1902) spricht sich dagegen aus.

<sup>5)</sup> In der sogen. Lintner-Diastase finden sich z. B. neben Oxydasen amylolytische Fermente (Wender), und bereits Jacobson fand, daß man die Wirkung auf Guajak durch Erwärmen der Diastasepräparate vernichten kann, ohne die diastatische Wirkung aufzuheben.

Stelle habe ich<sup>1)</sup> die Ueberzeugung gewonnen, daß in der Tat hier Fermente, sowohl hydrolytische wie oxydierende, in Aktion treten. Besonders beim Tee ist dies deutlich, und ich habe den Unterschied zwischen schwarzem (d. h., bei einer ganz bestimmten relativ niedrigen Temperatur, fermentiertem) und grünem (d. h. durch Erhitzen abgetöteten) Tee so gedeutet, daß die schwarze Farbe des schwarzen Tees durch die Wirkung eines Enzyms hervorgerufen werde, die grüne des grünen Tees aber dadurch erhalten werde, daß die Blätter unmittelbar nach dem Pflücken „gebraten“ werden. Dadurch wird das Enzym abgetötet. In der Tat haben nun neuerdings Aso und Pozzi-Escot<sup>2)</sup> aus frischen Teeblättern eine Oxydase isoliert, die von einer Reduktase (der Jaquemase) begleitet wird, die die Autoren als mit der Loew'schen Katalase identisch betrachten. Auch hier wurde in der Asche wieder Mangan (neben Fe) gefunden.

Die Wirkung der Oxydasen äußert sich hier an Körpern der Gerbstoffgruppe und führt zur Entstehung stark rotbraun gefärbter Produkte, die man zu den Phlobaphenen im weitesten Sinne rechnen kann, und die ich unter dem Namen „Gerbrote“ (Chinarot, Tormentillrot, Zimmtrot, Kolarot, Kinorot etc.) zusammengefaßt habe<sup>3)</sup>. Daß ihre Entstehung von dem Vorhandensein und in Wirksamkeittreten von Enzymen, speziell wohl Oxydasen abhängt, habe ich in zwei Fällen nachgewiesen, bei der Kolanuß<sup>4)</sup> und bei der Chinarinde<sup>5)</sup>, und die Ansicht ausgesprochen, daß voraussichtlich alle Rote auf die gleiche Weise entstehen. Frischer Kolasamen färbt sich durchschnitten nicht rot, wenn man ihn zuvor auf 60–70° erhitzt hat, und die Chinarinde wird nicht rot, wenn man den Zweig vor dem Ablösen der Rinde in heißes Wasser einbringt, um das Enzym abzutöten.

Daß Enzyme, wieder wohl neben hydrolytischen vornehmlich Oxydasen, beim Trocknen frischer Pflanzenteile in Wirksamkeit treten und nachträgliche postmortale Veränderungen hervorrufen, die sich schon durch den Geruchssinn feststellen lassen, sehen wir bei vielen

<sup>1)</sup> Tschirch, Indische Heil- und Nutzpflanzen und deren Kultur, Berlin 1892.

<sup>2)</sup> Rev. gen. de chim. pure et appl. 5, 419 und Aso, On the Role of Oxydase in the preparation of Commercial Tea, Bull. Coll. agric. Tokio 4 (1901), p. 255.

<sup>3)</sup> Angew. Pflanzenanatomie, S. 127.

<sup>4)</sup> Anatom. Atlas d. Pharmakognosie (mit O. Oesterle) II, S. 350; auch Carles (1900), Bourquelot (1896) und Kilmer (1894) fanden Enzyme in der Kola.

<sup>5)</sup> Die Rotfärbung der Chinarinde, Schweiz. Wchschr. f. Pharm. 1905, No. 10.

Drogen. Ich erinnere nur an das Irisrhizom und die Baldrianwurzel<sup>1)</sup>, die beide im frischen Zustande gar nicht, resp. ganz anders riechen wie im getrockneten.

Noch viel merkwürdiger ist nun aber das Enzym des Japanlackes, dessen Wirkung durch Yoshida und Bertrand (s. oben) aufgeklärt wurde.

Wir haben den Ergebnissen dieser Autoren nichts Wesentliches hinzuzufügen. Alle Beobachtungen stimmen zu der Deutung, die sie dem Vorgange der Verfärbung und Erhärtung des Lackes geben.

Das von uns erhaltene Gummi-Laccase-Gemisch zeigte folgende Reaktionen:

|   |  |
|---|--|
| Guajakharzlösung . . .                  | rasch intensiv blau.   |
| $\alpha$ -Naphthol . . . . .            | nach einiger Zeit blauviolett.                                   |
| Pyrogallol . . . . .                    | gelb, nach einiger Zeit ziegelroter Niederschlag.                |
| Pyrogallol + $H_2O_2$ . . .             | bräunlich gelb, kein Niederschlag, auch nicht am folgenden Tage. |
| Hydrochinon . . . . .                   | rötlich gelb, Chinonkrystalle.                                   |
| Hydrochinon + $H_2O_2$ . . .            | bräunlich gelb.  |
| Jodkali + Stärke . . .                  | rötlich violett, am anderen Tage blau.                           |
| Hydroperoxyd . . . . .                  | schwache Sauerstoffentwicklung.                                  |
| Tetramethylpara-phenylendiamin . . .    | tiefblau.  |
| Paraphenylendiaminchlorhydrat . . . . . | gelblich.  |
| Guajakol . . . . .                      | keine Reaktion.  |
| Guajakol + $H_2O_2$ . . .               | do.  |
| Vanillin-Salzsäure . . .                | do.  |
| Anilinacetat . . . . .                  | do.  |
| Anilinacetat + $H_2O_2$ . . .           | am folgenden Tage starke rote Trübung.                           |

Millon's Reagens . . . sehr schwache rötlichgelbe Färbung.

Diese Reaktionen lassen für die Vermutung Raum, daß in der Laccase ein Gemisch mehrerer Enzyme vorliegt.

Daß die Laccase beim Erhitzen mit trockenem KOH Pyrrol entwickelt, ist schon oben erwähnt<sup>2)</sup>. Dieser Nachweis ist insofern interessant, als er es wahrscheinlich macht, daß der Körper zu den

<sup>1)</sup> In dieser hat Carles (Journ. pharm. Chim. 1900, 12, 148) eine Oxydase nachgewiesen.

<sup>2)</sup> Vergl. im übrigen unseren Aufsatz „Ueber die Gummi-Enzyme“ in Pharm. Zentralh. 1905, No. 31.

Eiweißsubstanzen gehört, denn E. Fischer fand bekanntlich unter den Spaltungsprodukten verschiedener Eiweißkörper die Pyrrolidin-2-Karbonsäure, einen Abkömmling des Pyrrols.

Durch Kochen der Lösung, ja schon durch Erwärmen auf 70° wird die Laccase abgetötet. Sie gibt alsdann die Reaktion auf Guajak nicht mehr, wohl aber natürlich noch Pyrrol. Im trockenen Zustande ist die Laccase ziemlich resistent selbst gegen höhere Hitze-graden. Nach zweistündigem Erhitzen auf 100° tritt die Guajakreaktion noch ziemlich stark hervor, nach 5 Minuten war die Farbe tiefblau. Nach zweistündigem Erhitzen auf 120° erreichte die Farbe nach 10 Minuten, nach zweistündigem Erhitzen auf 140° nach 30 Minuten die gleiche Intensität. Erst nach zweistündigem Erhitzen auf 160° zeigte die Substanz keinerlei Reaktion mehr auf Guajak.

Da die Laccase hier mit Gummi vergesellschaftet vorkam, haben wir auch andere Gummisubstanzen auf Oxydasen untersucht.

Daß Gummi arabicum auf Guajak reagiert, ist seit 1809 bekannt (s. oben). Eine Oxydase (Laccase) wurde von Struve<sup>1)</sup>, Bertrand und Bourquelot darin nachgewiesen<sup>2)</sup>.

1865 hatte Wiesner<sup>3)</sup> darin ein Ferment aufgefunden; das er „Gummiferment“ nannte und von dem er (allerdings ohne genügende Beweise) annahm, daß es im stande sei, die Cellulose in Gummi umzuwandeln. Reinitzer kam zu entgegengesetzten Schlüssen wie Wiesner. Er fand, daß das Gummiferment keine Wirkung auf Cellulose besitzt, und daß es Stärkekleister in einen reduzierenden Zucker verwandelt. Er hält es für Diastase. (?) Eine andere Hypothese wie Wiesner stellte Beijerinck<sup>4)</sup> auf. Er meinte, daß die Gummibildung bei dem Pflirsich, der Aprikose, Pflaume und Kirsche durch ein von einem Ascomyceten (*Coryneum Beijerinckii*) erzeugtes Ferment bewirkt werde. Auch diese Hypothese ist nicht genügend gestützt. Nachdem dann von Hoehnel<sup>5)</sup> gezeigt hatte, daß die Membran der Zellen am Orte der Gummibildung<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup> Liebig's Ann. 163, 160.

<sup>2)</sup> Compt. rend. soc. biolog. 49 (1897). Vergl. auch Garros, Bull. soc. chim. 1892; Lutz, Contrib. à l'étude chim. des gommes, Thèse, Paris 1895.

<sup>3)</sup> Ueber das Gummiferment, Sitzber. d. Wien. Akad. 1885, und Monatsh. d. Chem. 6 (1885), S. 592.

<sup>4)</sup> Onderzoekingen over de Besmettelijkheid der Gomziekte bij planten, Amsterdam 1884. Bot. Jahresh. 1883/84, S. 18.

<sup>5)</sup> Ber. d. d. bot. Ges. 1888, S. 156.

<sup>6)</sup> Die anatomischen Verhältnisse der Gummose wurden beim Gummi arabicum von Moeller aufgeklärt.

quantitativ viel zu gering ist, um als ausschließliches Material für die oft enorme Gummibildung gelten zu können, und daß 99% des Gummis auf Rechnung zugeführter Substanzen zu setzen sei, vertrat G. Smith<sup>1)</sup> die Ansicht, daß das Gummi überhaupt nicht aus Cellulose, sondern aus Lävulose und Maltose, den wandernden Zuckerarten, und zwar durch Bakterien (bes. *Bacterium Acaciae* und *B. metarabanicum*) gebildet werde. Ob hierbei ein Enzym in Frage kommt, ist nicht erwiesen. Vielleicht ist die im Gummi gefundene Oxydase ein Produkt genannter Bakterien. Grüss<sup>2)</sup> denkt sich die Gummibildung in der Weise verlaufend, daß die Gruppe COH in dem Zucker- oder Saccharo-Colloid-Molekül durch Sauerstoffüberträger in die COOH-Gruppe verwandelt wird und so Arabin- resp. Galaktinsäuren entstehen. Als Sauerstoffüberträger würden die Oxydasen fungieren.

Daß übrigens nicht nur Gummi arabicum, sondern auch alle anderen pathologischen Gummis (Senegal, Sudan, Kap, Brasil, Chagual, ferner das Moringa-, Swietenia-, Feronia-, Amygdalaceen-Gummi) die Guajakreaktion geben, zeigten Wiesner, Lemeland und Bourquelot.

Daß das Enzym vielleicht zur Bildung des pathologischen Gummis, wie sie im arabischen Gummi, dem Amygdalaceengummi u. a. vorliegen, in Beziehung steht, zeigen scheinbar die Fälle, wo Gummischleim in Form normaler Schleimmembranen von vornherein angelegt wird, wie dies z. B. beim Traganth der Fall ist. Hier konnten wir keine Oxydase nachweisen<sup>3)</sup>, denn hier handelt es sich nicht um Umwandlung von Cellulose in Gummi<sup>4)</sup>, wie Wiesner fälschlich annimmt, und auch nicht um Gummibildung aus Zucker.

Ebenso wie der Traganth, der aus herausgepreßten Schleimmembranen besteht, die, wie gesagt, nicht einer nachträglichen Umwandlung von Cellulosemembranen ihre Entstehung verdanken, sondern als Schleimmembranen von vornherein angelegt werden<sup>5)</sup>, verhalten sich nun auch andere Gummischleime gleicher Entstehungsart, wie z. B. der Gummischleim der Schleimepidermen von *Linum* und *Cydonia*.

Traganthschleim (auch durch 24 stündigem Stehen erhaltener), Leinsamen- und Quittensamenschleim gaben auch nach 24 Stunden

1) Journ. soc. chem. ind. 1904, p. 172.

2) Bibliotheca botanica, Heft 39 (1896).

3) Payet gibt zur Unterscheidung des Traganth und Gummi arabic. Behandeln mit Guajakol (1%) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> an: Gummi arabic. wird sofort gebläut (Ann. Chim. analyt. X).

4) Wir verweisen auf die Kapitel „Schleimmembran“ in der Angewandten Pflanzenanatomie von Tschirch.

5) Angew. Pflanzenanatomie.



keine Reaktion mit Guajak, mit Guajak und  $H_2O_2$ , mit  $\alpha$ -Naphthol oder Pyrogallol, während ein gleichzeitig angestellter Kontrollversuch mit Gummi arabicum schon nach wenigen Minuten deutliche Bläuung und nach 24 Stunden deutliche Blauviolettfröbung der  $\alpha$ -Naphthollösung zeigte — allerdings lange nicht so stark, als die Laccase aus Japanlack, die von allen bekannten Oxydasen am stärksten reagiert.

Es ist also auch jetzt noch nicht erwiesen, daß das Enzym, das man im Gummi arabicum und den heimischen Gummis findet, zur Gummibildung in Beziehung steht. Das einzige was sicher ist, ist, daß es in den Gummis vorkommt.

Es ist nun sehr bemerkenswert, daß sich Oxydasen auch in anderen Gummis, soweit es sich nicht um aus Schleimmembranen hervorgegangene handelt, regelmäßig finden.

Wir haben den Nachweis geführt<sup>1)</sup>, daß das Gummi des Ammoniacum, Galbanum, Takamahac, Olibanum, Opopanax, der Asa foetida und Myrrha ebenfalls auf Guajak reagiert, also Oxydasen enthält, und auch die Pyrrolreaktion gibt; allerdings keines der Objekte so stark wie Laccase. Hier kann es sich nicht um ein gummibildendes Enzym handeln, denn die Gummisubstanz der Gummiharze entstammt nach der Ansicht des einen von uns (T.) der resinogenen Schicht der Sekretbehälter. Es kann sich hier vielleicht um ein harzbildendes Enzym handeln, denn in der resinogenen Schicht befinden wir uns am Orte der Harzbildung, im Laboratorium der Harzerzeugung<sup>2)</sup>.

In einigen Gummiharzen fanden übrigens bereits Wiesner<sup>3)</sup> — Myrrha, Asa foetida — und Bourquelot<sup>4)</sup> — Myrrha, Bdellium — Enzyme. In Ammoniacum und Gummigutt fand Wiesner kein Enzym. Wir haben es in beiden gefunden. Bei beiden ist die Reaktion allerdings nicht sehr stark. Doch tritt z. B. beim Gummi der Gutti nach 24 Stunden deutliche Bläuung der Guajaklösung ein, beim Ammoniacumgummi sogar schon nach einer halben Stunde. Alle diese Gummiharze, in denen wir Oxydasen fanden, entstammen schizogenen Sekretbehältern. Sie sind Produkte des normalen Stoffwechsels, die durch Anschneiden der Organe einfach ausfließen, also nicht pathologische Produkte wie die Gummiarten.

1) Pharm. Zentralh. 1905.

2) Tschirch, Harze und Harzbehälter.

3) A. a. O. die von Wiesner zum Nachweis des Enzyms vorgeschlagene Orcinreaktion ist unbrauchbar. Sie hat mit dem Enzym nichts zu tun.

4) Rép. de pharm. 1897, S. 136. Vergl. ferner Etude sur les altérations des médicaments par oxydation. Congr. intern. de médecine Paris 1900, und Sur l'origine de la coloration de certaines gommés. Journ. pharm. 1897, S. 164. Auch: Mem. Soc. biolog. 1897, 25.

Wollen wir also der Oxydase in den pathologischen Gummis die Rolle eines Gummibildners zuschreiben, so müssen wir der Oxydase der Gummiharze eine andere Rolle zuerteilen.

Wie schon hieraus ersichtlich, ist die Rolle, welche die Oxydasen bei den Sekreten spielen, noch gänzlich unklar und bedarf weiterer Aufklärung.

Ueberschaut man die bisher erzielten Ergebnisse, so erhält man den Eindruck, daß Gummi und Oxydase in irgend einer Beziehung zu einander stehen. Es soll daher für die mit gummiartigen Substanzen vergesellschafteten Oxydasen der Name Gummase (Gummi-Enzyme, Gummi-Oxydasen) benutzt werden. Diese Bezeichnung folgt allerdings nicht den Duclaux'schen Nomenklaturregeln, welche zur Benennung der Enzyme den Wortstamm des Namens der katalysierten Substanz mit der Endung ase vorschreiben, denn dann müßten Gummase solche Oxydasen sein, welche auf Gummi einwirken. Da wir aber über die physiologische Bedeutung der Gummi-Oxydasen noch nichts wissen, auch das gemeinsame Vorkommen von gummiartigen Substanzen und Oxydasen nur konstatieren<sup>1)</sup> aber nicht deuten können, so mögen diese Enzyme vorläufig den wenigstens über ihr Vorkommen orientierenden Namen Gummase erhalten. Die Laccase wäre also eine Lack-Gummase.

---

Mitteilungen aus dem chem.-pharm. Laboratorium der  
Reichstierarzneischule in Utrecht.

## ***Thalictrum aquilegifolium*, eine Blausäure liefernde Pflanze.**

Von L. van Itallie.

(Eingegangen den 1. X. 1905).

Die Mitteilungen von Guignard<sup>2)</sup> über das Vorkommen eines Blausäure liefernden Glykosides in den Blättern von *Sambucus nigra* L. haben mich veranlaßt, frühere, in gleicher Richtung gehende Untersuchungen wieder aufzunehmen.

Ich konnte dabei Guignard's Beobachtungen in allen Teilen bestätigen, obwohl die von mir gefundenen Mengen Cyanwasserstoffsäure ein wenig gegen die vom genannten Forscher gefundenen zurückblieben. Guignard's Versuche fanden im Juni, die meinigen im September statt.

<sup>1)</sup> Gummiartige Substanzen als Begleiter von Oxydasen wurden auch von Bach und Chodat, Cazeneuve u. a. (s. oben) beobachtet.

<sup>2)</sup> Compt. rend. de l'Ac. d. sc. 1905 du 24. Juillet.