

## 151. Über die Cholin-esterase des Gehirns und der Erythrocyten<sup>1)</sup>

zugleich 3. Mitteilung über die Beeinflussung von Fermentreaktionen  
durch Chemotherapeutica und Pharmaka<sup>2)3)</sup>

von Ernst Albert Zeller und Alfred Bissegger.

(29. VI. 43.)

Die Cholin-esterase (ChE) wird durch eine Reihe von Inhibitoren wie Diamine, Sulfonamide<sup>2)</sup> und Pyrazolone<sup>3)</sup> je nach ihrer Herkunft sehr verschieden beeinflusst. Diese Befunde wurden nicht nur an ChE-Präparaten, die von verschiedenen Tierarten stammten, sondern auch an solchen von ein und derselben Spezies erhoben. So wird beispielsweise die ChE des Meerschweinchenserums durch Irgamid(N-Dimethylacroyl-p-aminobenzolsulfonsäureamid) viel weniger gehemmt als die des Menschenserums, die ChE des Menschenserums durch Isopropyl-antipyrin viel stärker als die der zentralen grauen Kerne des menschlichen Gehirns. Zu ähnlichen Resultaten gelangten auch *Hottinger* und *Bloch*<sup>4)5)</sup> bei der Untersuchung der Wirkung von Tri-o-kresylphosphat auf die ChE und Lipase.

Es sind schon einzelne weitgehend gereinigte und krystallisierte Fermente gewonnen worden, die in ihrem chemischen und vor allem immunologischen Verhalten voneinander abwichen, wenn sie von verschiedenen Tierarten stammten<sup>6)</sup>. Ihr Protein nimmt offenbar an der allgemeinen Art-Spezifität der Eiweisskörper teil. Diese Ergebnisse können möglicherweise für die Erklärung der erwähnten Unterschiede zwischen der Hemmbarkeit der Serum-ChE von Mensch und Meerschweinchen herangezogen werden. Hingegen sind bisher analoge organ-spezifische Strukturen der Fermentproteine nicht gefunden worden. So hatten kürzlich *Kubowitz* und *Ott*<sup>7)</sup> das Protein des Pyridinfermentes, das die Brenztraubensäure zu Milchsäure reduziert, sowohl aus Ratten-Muskel wie aus *Jensen-Sarkom* der gleichen Tierart isoliert und diese beiden Proteine auf ihre Identität geprüft: Beide Eiweisskörper katalysierten die Reduktion gleich stark und beide wurden durch das in Kaninchen zum Muskelprotein gebil-

---

<sup>1)</sup> Die vorliegenden Ergebnisse wurden auszugsweise an der 23. Tagung des Schweizerischen Vereins der Physiologen und Pharmakologen am 3.—4. Juli 1943 mitgeteilt.

<sup>2)</sup> 1. Mitteilung: *E. A. Zeller*, *Helv.* **25**, 216 (1942).

<sup>3)</sup> 2. Mitteilung: *E. A. Zeller*, *Helv.* **25**, 1099 (1942).

<sup>4)</sup> *A. Hottinger* und *H. Bloch*, *Helv.* **26**, 142 (1943).

<sup>5)</sup> *H. Bloch*, *Helv.* **26**, 733 (1943).

<sup>6)</sup> Einige Beispiele sind im Handbuch für Enzymologie (*F. F. Nord* und *R. Weidenhagen*, Leipzig 1940) in der Arbeit von *J. N. Northrop* zusammengestellt worden (vgl. insbesondere S. 658).

<sup>7)</sup> *K. Kubowitz* und *P. Ott*, *Naturwiss.* **30**, 732 (1942); *Bioch. Z.* **314**, 94 (1943).

dete Antiferment in gleichem Ausmass gehemmt. Eine Organ-Spezifität dieses wasserstoffübertragenden Fermentes liess sich somit nicht nachweisen.

Da die Organ-Spezifität des Fermentproteins somit vorläufig nicht für die Erklärung der erwähnten Unterschiede herangezogen werden kann, versuchten wir eine Lösung durch eine genauere experimentelle Charakterisierung eines der erwähnten Fermentpaare zu finden. Dazu wählten wir die Serum- und Hirn-ChE des Menschen<sup>1)</sup> und konnten auf Grund einer langen Reihe von Hemmungsreaktionen mit den verschiedensten Inhibitoren zeigen, dass der Hirn-Typ der ChE vom Serum-Typ eindeutig abgegrenzt werden kann.

Durch die Publikationen von *Alles* und *Hawes*<sup>2)</sup> und *Richter* und *Croft*<sup>3)</sup> (die letztere gelangte allerdings erst nach Abschluss der experimentellen Arbeit zu unserer Kenntnis) ist eine weitere ChE, die sich von der Serum-ChE unterscheidet, bekannt geworden. In der Tabelle 1 sind einige Eigenschaften der Serum- und der Erythrocyten-ChE zusammengestellt worden. Auch hier handelt es sich um zwei Typen, die fast als einziges Gemeinsames die Fähigkeit besitzen, Acetyl-cholin zu hydrolysieren.

**Tabelle 1.**

Serum- und Erythrocyten-Cholin-esterase des Menschen.

	Serum-ChE	Erythrocyten-ChE
p <sub>H</sub> -Optimum . . . . .	>8,5	7,5—8,0
opt. Substratkonzentr. . .	>0,25 × 10 <sup>-4</sup> -m.	0,25 × 10 <sup>-6</sup> -m.
Aktivierung mit NaCl . .	—	+
Abbau von Tributyrin . . .	+	—
Abbau von β-Methylacetylcholin . . . . .	—	+

Wir prüften nun die beiden vom Serum-Typ verschiedenen ChE, Hirn- und Erythrocyten-Typ, auf ihre Identität, in dem wir einerseits die Hemmungsaktionen, die zur Definierung der Hirn-ChE führten, auf die Erythrocyten-ChE anwandten und andererseits einzelne von den erwähnten Autoren angeführte Methoden, die zur Abgrenzung der Erythrocyten- von der Serum-ChE dienten, auf die Hirn-ChE übertrugen. In allen diesen Versuchen verhielten sich die beiden Typen genau gleich und sollen bis auf weiteres als e-Typ dem

<sup>1)</sup> Da es sich im folgenden immer um die Fermente des menschlichen Blutes handelt, wird auf diese Tatsache nicht mehr besonders hingewiesen.

<sup>2)</sup> G. A. *Alles* und R. C. *Hawes*, J. Biol. Ch. **133**, 375 (1940).

<sup>3)</sup> D. *Richter* und P. G. *Croft*, Biochem. J. **36**, 746 (1942).

s-Typ der Serum-ChE gegenüber gestellt werden. Die Existenz der beiden Typen ist somit im Sinne der oben gestellten Frage nicht auf eine Organspezifität der Fermentproteine, sondern auf wesentlich tiefer gehende Strukturunterschiede zurückzuführen.

### Methodik.

Wie in allen Arbeiten der vorangehenden Publikationen über die ChE wurde diese manometrisch bestimmt. Die Enzymreaktion findet in einer Hydrogencarbonat-haltigen Lösung statt, aus der die entstehende Essigsäure die äquivalente Menge Kohlendioxyd frei setzt. Dieses Prinzip, das zuerst bei der gasometrischen Lipasebestimmung<sup>1)</sup> und zur Messung der glykolytisch gebildeten Milchsäure herangezogen wurde, gelangte bei mehreren Autoren für die Untersuchung der ChE zur Anwendung<sup>2)3)4)</sup>, wobei teils die *Barcroft'schen* Differentialmanometer, teils die offenen *Warburg'schen* Manometer verwendet wurden.

Zur Gewinnung von Serum-ChE wurde (durch Schütteln mit Glasperlen defibriniertes) Blut zentrifugiert und das Serum mit Hydrogencarbonat-*Ringer*<sup>5)</sup> verdünnt. Die Erythrocyten wurden dreimal auf der Zentrifuge mit 0,9-proz. Kochsalzlösung gewaschen und mit destilliertem Wasser hämolysiert. Die Verdünnungsangaben beziehen sich auf das Blutvolumen, in dem die Erythrocyten ursprünglich suspendiert waren. Die Hirn-ChE wurde aus den grossen zentralen Kernen (Putamen und Nucleus caudatus) des menschlichen Gehirns genau nach der Methode von *Birkhäuser*<sup>5)</sup> dargestellt.

Im Gegensatz zur Praxis mancher Autoren sorgten wir für eine möglichst gleich grosse Aktivität der zu untersuchenden Enzymlösungen, was durch die den Hauptversuchen vorangehenden Aktivitätsbestimmungen unschwer zu erreichen war. Im Allgemeinen werden Fermente verschiedener Konzentration auch verschieden grosse Inhibitorenkonzentrationen verlangen, um den gleichen Hemmungseffekt erscheinen zu lassen.

Die Ausschläge der Ansätze, in denen Ferment-, aber keine Acetyl-cholin-Lösung (Leerversuch), oder Acetyl-cholin (ACh), aber kein Ferment vorhanden war (Eigenhydrolyse des ACh), waren im Vergleich mit den Hauptansätzen (Ferment + ACh) so klein, dass sie das Versuchsergebnis nicht beeinflussten. Trotzdem wurden Minuswerte und Eigenhydrolyse regelmässig bestimmt. In den Versuchen zur Ermittlung der Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von

---

1) *P. Rona* und *Lasnitzky*, *Bioch. Z.* **152**, 504 (1924).

2) *R. Ammon*, *Arch. ges. Physiol.* **233**, 468 (1933).

3) *E. Stedman* und *E. Stedman*, *Bioch. J.* **29**, 2107 (1935).

4) *M. S. Jones* und *H. Tod*, *Bioch. J.* **29**, 2242 (1935).

5) *H. Birkhäuser*, *Helv.* **23**, 1071 (1940).

der ACh-Konzentration sind bei den höhern ACh-Konzentrationen die Eigenhydrolysen so gross, dass sie gegenüber der Fehlerbreite der Methode durchaus ins Gewicht fallen und entsprechende Berücksichtigung fanden.

Alle Konzentrationsangaben beziehen sich auf die definitive Lösung. Damit sind auch die absoluten zur Verwendung gelangenden Mengen bestimmt da das Volumen aller Ansätze 2 cm<sup>3</sup> betrug.

## Ergebnisse.

### A. Hemmungsversuche.

Es wurden zuerst Hemmungsversuche mit allen unten angegebenen Inhibitoren an der Serum- und Erythrocyten-ChE durchgeführt, später in gleicher Weise an der Serum- und Hirn-ChE. Dabei wurde das völlig gleichartige Verhalten der Hirn- und Erythrocyten-ChE erkannt. In einer dritten Serie wurden alle drei Enzympräparate gleichzeitig der Einwirkung der Inhibitoren unterworfen. Nur diese letzte Versuchsreihe wird hier angeführt. Die gewählten Beispiele sind jeweilen die Repräsentanten mehrerer Versuche, die ausnahmslos zum gleichen Ergebnis führten. Da die Fermentquellen immer wieder gewechselt wurden, wurden individuelle Besonderheiten ausgeschaltet.

#### 1. Hemmung der ChE durch Percain, Irgamid und Isopropyl-antipyridin.

Percain (Butyloxy-cinchoninsäure-diäthyläthylendiamid-hydrochlorid<sup>1)</sup>), Irgamid<sup>2)</sup> und Isopropyl-antipyridin<sup>3)</sup> waren schon als Inhibitoren der ChE bekannt. Alle 3 Stoffe besitzen die Eigenschaft, die Serum-ChE viel stärker als die Hirn- und Erythrocyten-ChE zu hemmen. Hingegen finden sich zwischen der Hirn- und Erythrocyten-ChE keine Unterschiede, die wesentlich über die Fehlerbreite der angewandten Methodik hinausgingen. Der Abstand zwischen der Hemmbarkeit der Serum-ChE (s-Typ) einerseits und der Hirn- und Erythrocyten-ChE (e-Typ) andererseits ist bei den 3 Stoffen nicht derselbe. Besonders deutlich ist die grössere Beeinflussung der e-ChE durch das Isopropyl-antipyridin als durch Irgamid und Percain.

Die prozentuale Hemmung für die in Fig. 1 dargestellten Versuche  $\left(\frac{v_0 - v}{v_0} \cdot 100\%\right)$  beträgt 94 % für die Serum-ChE, 12 % für die Hirn- und 25 % für die Erythrocyten-ChE.

<sup>1)</sup> R. Ammon und K. Zipf, Klin. Wschr. **20**, 1176 (1941).

<sup>2)</sup> 1. Mitteilung, l. c.

<sup>3)</sup> 2. Mitteilung, l. c.

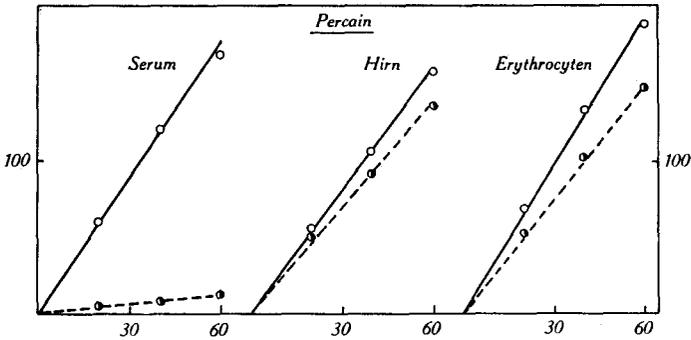


Fig. 1<sup>1)</sup>.

Versuchs-Nr. Bs 57.

Hemmung der Serum-, Hirn- und Erythrocyten-ChE durch Percain. Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm<sup>3</sup> Kohlendioxid. Ferment: 0,5 cm<sup>3</sup>, Serum 10fach, Hirn (Nucleus caudatus) 120fach, Erythrocyten 16fach verdünnt. Acetyl-cholin: 0,0066-m. Percain: 0,006-m.

Aus den Versuchen der Fig. 2 lassen sich folgende prozentuale Hemmungen berechnen: Serum-ChE: 46 %, Hirn-ChE: 3 %, Erythrocyten-ChE: 4 %.

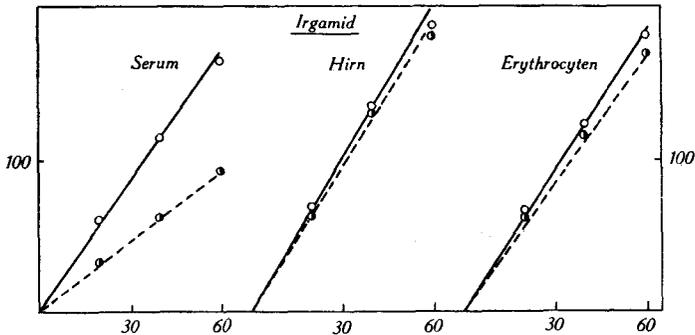


Fig. 2.

Versuchs-Nr. Bs 58.

Hemmung der Serum-, Hirn- und Erythrocyten-ChE durch Irgamid. Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm<sup>3</sup> Kohlendioxid. Irgamid: 0,006-m. Sonst gleiche Versuchsbedingungen wie im Versuch Fig. 1.

Da in der vorangehenden Mitteilung die Hemmbarkeit der Serum- und Hirn-ChE durch Isopropyl-antipyrin zur Darstellung gelangte, sei hier in Fig. 3 nur die Hemmung der Erythrocyten-ChE im Vergleich zur Serum-ChE angeführt.

Die prozentuale Hemmung betrug für die Serum-ChE 65 %, für die Erythrocyten-ChE 9 % (und für die Hirn-ChE 18 %). In einem

<sup>1)</sup> Die gestrichelten Kurven stellen die Ansätze, denen der Inhibitor beigelegt wurde, dar.

andern Versuch mit einer höhern Isopropyl-antipyrim-Konzentration (0,006-m.) fanden sich für die Serum- und Erythrocyten-ChE die Werte von 81% bzw. 26%.

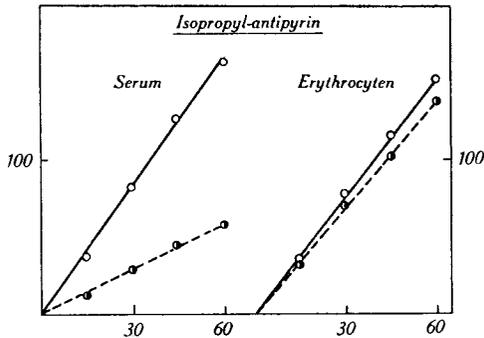


Fig. 3.

Versuchs-Nr. Bs 27.

Hemmung der Serum- und Erythrocyten-ChE durch Isopropyl-antipyrim. Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm<sup>3</sup> Kohlendioxyd. Ferment: Serum 17fach, Erythrocyten 10fach verdünnt. Isopropyl-antipyrim 0,002-m. Sonst gleiche Versuchsbedingungen wie Versuch Figur 1.

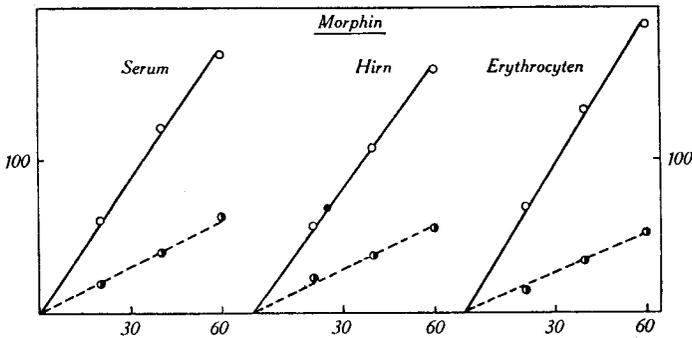


Fig. 4.

Versuchs-Nr. Bs 57.

Hemmung der Serum-, Hirn- und Erythrocyten-ChE durch Morphin. Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm<sup>3</sup> Kohlendioxyd. Morphin 0,006-m. (nicht völlig gelöst, also gesättigte Lösung), die übrigen Versuchsbedingungen wie bei Versuch Figur 1.

## 2. Die Hemmung der ChE durch Morphin.

Mehrere Autoren stellten fest, dass Morphin als Inhibitor auf die ChE wirkt<sup>1)2)3)4)</sup>, und zwar sowohl auf die Serum-ChE<sup>3)</sup> als auf

<sup>1)</sup> F. Bernheim und M. L. C. Bernheim, J. Pharmacol. Exptl. Therap. **57**, 427 (1936).

<sup>2)</sup> H. H. Kuhn und D. Surles, Arch. intern. pharmacodynamie **58**, 88 (1938).

<sup>3)</sup> D. Slaughter und R. W. Lackey, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **45**, 8 (1940).

<sup>4)</sup> G. S. Eadie, J. Biol. Chem. **138**, 597 (1941).

die Hirn-ChE<sup>1</sup>). Wie aus Fig. 4 hervorgeht, hemmt Morph $\overline{\text{in}}$ , im Gegensatz zu den in Abschnitt 1 angeführten Basen, die beiden Fermenttypen, die Serum-ChE einerseits, die Hirn- und Erythrocyten-ChE andererseits ungefähr gleich stark.

Die in Fig. 4 dargestellten Versuche ergeben folgende prozentualen Hemmungswerte: Serum: 66 %, Hirn: 66 %, Erythrocyten: 76 %.

### 3. Die Hemmung der ChE durch Coffein.

Während die in Abschnitt 1 angeführten Basen praktisch nur die Serum-ChE hemmt, wirkt Coffein fast nur auf die Hirn- und Erythrocyten-ChE (Fig. 5).

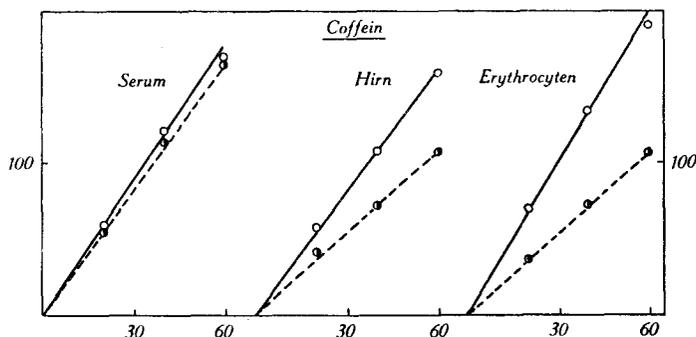


Fig. 5.

Versuchs-Nr. Bs 57.

Hemmung der Serum-, Hirn- und Erythrocyten-ChE durch Coffein. Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm<sup>3</sup> Kohlendioxid. Coffein 0,006-m. Die übrigen Versuchsbedingungen wie im Versuch Figur 1.

Die Serum-ChE wird zu 4 %, die Hirn-ChE zu 40 % und die Erythrocyten-ChE zu 42 % gehemmt.

#### B. Substratkonzentration und Reaktionsgeschwindigkeit.

Wenn die ACh-Konzentration sukzessive vergrößert wird, nimmt die durch die ChE katalysierte Reaktionsgeschwindigkeit ständig zu. Die Aktivitäts- $p_s$ -Kurve wird immer flacher, ohne ein eigentliches Maximum zu erreichen (vgl. beispielsweise *Alles* und *Hawes*, l. c., Fig. 2). Bei der Erythrocyten-ChE hingegen zeigt die Aktivitäts- $p_s$ -Kurve ein ausgesprochenes Optimum, da die Reaktionsgeschwindigkeit von einer bestimmten ACh-Konzentration an mit zunehmender Substratkonzentration stetig kleiner wird (*Alles* und *Hawes*, l. c.). Dasselbe gilt für verschiedene Gewebe-ChE<sup>2</sup>).

<sup>1</sup>) P. Bernheim und M. L. C. Bernheim, J. Pharmacol. Exptl. Therap. **57**, 427 (1936).

<sup>2</sup>) F. Plattner und H. Hintner, Arch. ges. Physiol. **225**, 19 (1930).

Wenn die Hirn-ChE, wie aus den Versuchen A1—A3 hervorzugehen scheint, mit der Erythrocyten-ChE übereinstimmt, dann ist zu erwarten, dass auch die erstere die optimale ACh-Konzentration (Eigenhemmung durch Substratüberschuss) erkennen lässt, was, wie Tabelle 2 zeigt, tatsächlich der Fall ist. Auffallenderweise findet sich das Optimum in beiden Fällen bei der gleichen ACh-Konzentration.

**Tabelle 2.**

Versuchs-Nr. Bs 5.

Reaktionsgeschwindigkeit und Substratkonzentration bei Erythrocyten-Cholin-esterase.

Erythrocytenlösung 5fach verdünnt. Eigenhydrolyse des ACh berücksichtigt. Als Mass für die Reaktionsgeschwindigkeit ist die Zahl der freigesetzten mm<sup>3</sup> CO<sub>2</sub> nach 10 und 20 Minuten dargestellt.

Konzentration ACh in Milli-Mol	mm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> freigesetzt	
	10'	20'
0,3	14	16
0,6	21	26
1,1	32	40
2,2	57	70
<b>4,4</b>	<b>75</b>	<b>143</b>
8,8	53	129
17,7	50	111

**Tabelle 3.**

Versuchs-Nr. Bs 51.

Reaktionsgeschwindigkeit und Substratkonzentration bei Hirn-Cholin-esterase.

Hirn-Extrakt 40fach verdünnt. Übrige Bedingungen und Darstellung wie bei Versuch Tabelle 2.

Konzentration ACh in Milli-Mol	mm <sup>3</sup> CO <sub>2</sub> freigesetzt	
	10'	20'
2,1	19	33
<b>4,1</b>	<b>23</b>	<b>35</b>
8,3	16	27
16,5	12	20
33,0	6	11

In einem weitem Versuch (Bs 61) nahm die Abbaugeschwindigkeit mit Hirn-ChE von der Konzentration des ACh 1,0—3,0-milli-m. zu, um von 4,0—12,0-milli-m. ständig abzunehmen.

*Diskussion der Ergebnisse.*

Der leichtern Übersicht halber sind die Ergebnisse in der Tabelle 4 schematisch zusammengestellt worden.

**Tabelle 4.**

Zusammenstellung einiger Eigenschaften der Serum-, Hirn- und Erythrocyten-ChE.

	Serum-ChE s-Typ	e-Typ	
		Hirn-ChE	Eryth.-ChE
Hemmung durch Percain . . .	++	-	-
— — Irgamid . . . . .	+	-	-
— — Isopropyl-antipyrin . .	++	+	+
Hemmung durch Morphin . . .	++	++	++
Hemmung durch Coffein . . .	-	++	++
Eigenhemmung durch Substrat- überschuss . . . . .	-	++	++

Die in Tabelle 4 angeführten Eigenschaften bestätigen die in Tabelle 1 gezeigten Wesensunterschiede zwischen der Serum und der Erythrocyten-ChE und beweist das völlig gleichartige Verhalten der Hirn- und Erythrocyten-ChE, die deshalb als einheitlicher e-Typ zusammengefasst und dem s-Typ der Serum-ChE gegenübergestellt werden. Die von *Alles* und *Hawes*<sup>1)</sup> und *Richter* und *Croft*<sup>2)</sup> aufgestellte Behauptung der Existenz verschiedener ChE wird damit noch mehr gesichert und insofern erweitert, als der Beweis geliefert wurde, dass der gleiche Typ in verschiedenen Organen sich vorfinden kann. Wie diese beiden nun eindeutig charakterisierten Typen im Organismus verteilt sind, und ob daneben noch andere auftreten, soll in den von uns weiter geführten Arbeiten untersucht werden.

Die Verschiedenheit der beiden Fermente erstreckt sich bis auf den Bindungsmechanismus zwischen Ferment und Substrat. Die Tatsache der Eigenhemmung eines Fermentes durch Substratüberschuss wird heute allgemein mit einer doppelten Bindung zwischen der Haftstelle des Fermentes und dem Substrat gedeutet<sup>3)</sup>. Ein derartiges Beispiel ist von dem einen von uns in der Diamin-oxydase entdeckt und analysiert worden<sup>4)</sup>. Beim e-Typ, also bei der Hirn- und Erythrocyten-ChE, muss demnach sowohl die aufzulösende Estergruppe als auch die Ammoniumgruppe an das Ferment gebunden werden. In Fig. 6 ist die erstere Gruppe mit schwarzen Kreisen angedeutet worden, ebenfalls die Gegengruppe des Ferments, während die weissen Kreise die basische bzw. die als sehr wahrscheinlich anzunehmende saure Gegengruppe darstellen. In Fig. 6a ist die normale

<sup>1)</sup> *Alles* und *R. C. Hawes*, l. c.

<sup>2)</sup> *D. Richter* und *P. G. Croft*, l. c.

<sup>3)</sup> *J. B. S. Haldane*, *Enzymes*, London 1930, S. 84.

<sup>4)</sup> *E. A. Zeller*, *Helv.* **23**, 1418 (1940).

Lage, in der es zum Abbau des ACh kommt, gezeichnet, in Fig. 6b das Bindungsverhältnis bei grossen Substratkonzentrationen (Substratüberschuss), bei denen eine enzymatische Hydrolyse nicht möglich ist.

Bei dem s-Typ ist nur eine einfache Bindung anzunehmen, und zwar wahrscheinlich zwischen der Estergruppe und der entsprechenden Gegengruppe des Ferments. Die positiv geladene Ammoniumgruppe ist somit für die Bindung überhaupt nicht nötig. Die s-ChE, im besondern Fall die Serum-ChE, müsste demnach auch andere nicht basische Ester spalten können, was durch die mehrfach erwähnten Untersuchungen von *Richter* und *Croft* tatsächlich wahrscheinlich gemacht wurde. Hingegen kann die Erythrocyten-ChE, ein e-Typ, einfache aliphatische Ester wie Tributyrin und Buttersäure-methylester nicht abbauen; hier ist eben, wie das früher ganz allgemein für die ChE angenommen wurde, auch die basische (positive) Gruppe für die Bindung notwendig. Die von mehreren Autoren unter sehr verschiedenen Gesichtspunkten durchgeführten Untersuchungen führen somit zu Ergebnissen, die mit Hilfe des in Fig. 6 angedeuteten Modells einheitlich interpretiert werden können.

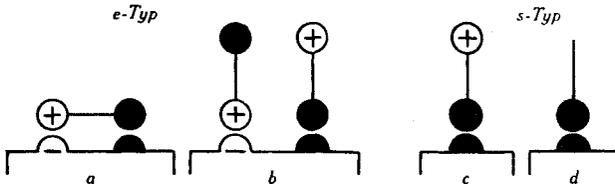


Fig. 6.

Modell des e- und s-Typs der Cholin-esterase.

Schwarze Kreise: Estergruppe, schwarze Halbkreise: entsprechende Haftgruppe des Ferments, weisse Kreise und Halbkreise: positiv resp. negativ geladene Gruppen.

6a: normale Bindung beim e-Typ. 6b: Bindungsverhältnisse bei überoptimaler Substratkonzentration. 6c: Bindung des Acetyl-cholins an den s-Typ. 6d: Bindung von aliphatischen Estern (z. B. Buttersäure-methylester) an den s-Typ.

Die beiden Typen lassen sich auch mit der von *Bergmann* kürzlich eingeführten Nomenklatur<sup>1)</sup> charakterisieren. Der Autor teilt die Proteinasen in homospezifische und heterospezifische ein. Homospezifisch sind beispielsweise Pepsin und die Pepsinasen der Milz und Niere, die alle nur Peptidbindungen spalten können, die einem Phenyl-alanin- oder Tyrosinrest benachbart sind, heterospezifisch zu den Pepsinasen sind die Trypsinasen, die als Nachbargruppe zur spaltenden Peptidgruppe einen Arginin- oder Lysinrest benötigen. In unserm Fall würde man die Erythrocyten- und die Hirn-ChE als homospezifisch, Serum- und Hirn-ChE dagegen als

<sup>1)</sup> *M. Bergmann*, *Advances in Enzymology* **2**, 49 (1942).

heterospezifisch bezeichnen. Im Gegensatz zu den Proteinasen kann bei den ChE das Substrat dasselbe sein, wird aber in verschiedener Weise gebunden. Wenn wir für die Serum-ChE einen aliphatischen Ester wie Buttersäure-methylester und für die e-ChE Acetyl-cholin wählen, dann ist die Analogie vollkommen.

Die ChE erlangte im Laufe der letzten Jahre eine grosse Beachtung in der Biologie, Klinik und Pathophysiologie. Die Existenz sehr verschieden reagierender Typen muss daher auf diesen Gebieten künftig Berücksichtigung finden. Einige Beispiele seien im Folgenden angedeutet:

1. Es ist die Frage zu diskutieren, ob den beiden Typen verschiedene biologische Aufgaben zufallen. Auch wenn vorläufig angenommen werden kann, dass die Hauptaufgabe der beiden Typen die Zerlegung von ACh ist, so könnte der eine im Zusammenhang mit der chemischen Reizübertragung stehen, der andere mit Stoffwechselfunktionen. In diesem Zusammenhang fällt das Vorkommen des e-Typs in lipoidreichen Zellen (Erythrocyten, Gehirn) auf. Der Umsatz der Fette erfolgt ganz allgemein durch intermediäre Bildung von Phosphatiden, wozu Cholin notwendig ist: lipotropic action des Cholins<sup>1)</sup>. Wenn man mit *Strack*<sup>2)</sup> annimmt, dass Acetyl-cholin nicht als reversible Reaktion der Esterspaltung durch die ChE gebildet wird, sondern durch Dismutation von Betain-aldehyd und Acetaldehyd, dann könnte die ChE die Aufgabe besitzen, Cholin für den Fettumsatz der Zelle zur Verfügung zu stellen.

2. Es ist schon mehrmals versucht worden, die Wirkung von Pharmaka mit ihrer Wirkung auf die ChE in Beziehung zu bringen (vgl. beispielsweise *Ammon* und *Zipf*, l. c.)

Da in der vorliegenden Arbeit gezeigt wurde, dass die verschiedenen ChE je nach ihrer Herkunft auf Isopropyl-antipyrin, Morphin Percain, Coffein usw. geradezu gegensätzlich reagieren, braucht es keinen besonderen Hinweis mehr, dass für die Aufdeckung solcher Beziehungen, sofern sie überhaupt existieren, nur die ChE der betreffenden Organe und Zellen herangezogen werden dürfen.

3. Die Typenanalyse wird die Möglichkeit bieten, Änderungen des ChE-Gehalts von Organen unter physiologischen und pathologischen Bedingungen näher zu charakterisieren. Wenn beispielsweise bei ständigen psychischen Erregungen die Serum-ChE ansteigt<sup>3)</sup> oder unter der Wirkung des Follikelhormons die Leber-ChE<sup>4)</sup> und

<sup>1)</sup> Zusammenfassung: *C. H. Best* und *J. H. Ridout*, Annual Rev. Biochemistry **8**, 349 (1939).

<sup>2)</sup> *E. Strack* und Mitarb., Z. physiol. Ch. **233**, 189 (1935); **245**, 11 (1936).

<sup>3)</sup> *D. Richter* und *M. H. Lee*, J. ment. Sci. **88**, 428, 435 (1942).

<sup>4)</sup> *H. Birkhäuser* und *E. A. Zeller*, Helv. **23**, 1460 (1940); *E. A. Zeller* und *H. Birkhäuser*, Helv. **24**, 120 (1941).

die Serum-ChE der Ratte<sup>1)</sup> zunimmt, so scheint es künftig nicht ausgeschlossen, die Herkunft der vermehrten Fermentaktivität zu bestimmen. In einem analogen Fall gelang es *Bodansky*<sup>2)</sup> zu zeigen, dass die gewaltig vermehrte „alkalische“ Phosphatase bei der *Paget*-schen Krankheit nicht aus der Darmschleimhaut stammen kann, weil die Phosphatase dieses Gewebes im Gegensatz zu den sonst nahe verwandten alkalischen Phosphatasen von „*Paget*“-Serum, Knochen, Serum und Niere durch Gallensäuren nicht gehemmt wird.

### Zusammenfassung.

1. Die Serum-ChE des Menschen wird durch Percain, Irgamid und Isopropyl-antipyrin stark, die ChE von menschlichem Gehirn und Erythrocyten werden nur schwach gehemmt. Morphin hemmt alle drei ChE ungefähr gleich stark, Coffein nur die Serum-ChE.

2. Die Hirn-ChE zeigt die Erscheinung der Eigenhemmung durch Substratüberschuss, wie es von der Erythrocyten-ChE schon bekannt war.

3. Es wird anhand der vorliegenden und aus der Literatur bekannten Ergebnisse die Existenz von zwei gänzlich verschiedenen Typen von ChE dargelegt. Hirn- und Erythrocyten-ChE reagieren in allen bekannten Fällen genau gleich und bilden den e-Typ, der dem s-Typ der Serum-ChE gegenüber gestellt wird.

4. Für beide Typen wird ein Modell der Bindung zwischen Ferment und Substrat entwickelt.

5. Es werden einige Konsequenzen der neuen Vorstellungen über die vielfache Natur der ChE für die Physiologie, Pathophysiologie, Pharmakologie und Herkunftsanalyse dieses Ferments angeführt.

Wir danken den Herren Prof. Dr. *R. Staehelin* und Prof. Dr. *R. Massini* für die Erlaubnis, die Untersuchungen im Laboratorium der medizinischen Universitätsklinik durchführen zu können, Herrn Prof. Dr. *A. Werthemann* für die Ueberlassung von Sektionsmaterial und Herrn Dr. *P. Läger* für verschiedene chemische Präparate.

Pharmazeutische Anstalt und Laboratorium  
der Medizinischen Klinik der Universität Basel.

---

<sup>1)</sup> *J. M. Beveridge* und *C. C. Lucas*, *Science* **93**, 356 (1941).

<sup>2)</sup> *O. Bodansky*, *J. Biol. Chem.* **118**, 341 (1937).