

# Neuere Untersuchungen über zentral wirkende endogene Amine

VON DR. J. W. DALY UND DR. B. WITKOP [\*]

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, BETHESDA, MARYLAND (USA)

*Untersuchungen während der letzten fünf Jahre haben unsere Kenntnisse über den Stoffwechsel und die Bedeutung der endogenen, peripher und zentral wirkenden Amine erheblich erweitert. Moderne Arzneimittel, die Stimmung und Gemütszustand beeinflussen, wirken meist direkt oder indirekt auf Biosynthese, Abbau, Speicherung oder Freisetzung der endogenen Amine im Gehirn. Diese Zusammenhänge haben unsere Vorstellungen von den biochemischen Grundlagen akuter, chronischer und erblicher Geisteskrankheiten vertieft. Man kann nunmehr die Anfänge einer „Chemie der Psyche“ als Wissenschaft der nahen Zukunft erkennen.*

- |   |   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>I. Einleitung</li><li>II. Biosynthese und Stoffwechsel<ul style="list-style-type: none"><li>1. Dopamin</li><li>2. Noradrenalin</li><li>3. Adrenalin</li><li>4. Tyramin</li><li>5. Serotonin und Tryptamin</li><li>6. Histamin</li></ul></li><li>III. Enzyme, die Biosynthese und Stoffwechsel zentral wirkender Amine katalysieren<ul style="list-style-type: none"><li>1. Hydroxylasen und Oxydasen für aromatische Verbindungen</li></ul></li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>2. Decarboxylasen</li><li>3. Catechol-O-Methyltransferase</li><li>4. Aminoxydasen</li><li>5. Dopamin-<math>\beta</math>-Oxydase (Noradrenalin-Synthetase)</li><li>6. N-Methylasen und N-Acetylasen</li><li>IV. Verteilung und Lokalisation der Amine und Enzyme</li><li>V. Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln und Aminen</li><li>VI. Wechselwirkungen zwischen endogenen Aminen</li><li>VII. Endogene Amine bei Gesunden und Kranken</li><li>VIII. Epilog: Biochemie des Geistes und Beeinflussung des Bewußtseins</li></ul> |
|---|---|

## I. Einleitung

Die Neurochemie, die nach den bahnbrechenden Untersuchungen *Thudichums* über die chemische Zusammensetzung des Gehirns in einen Dornröschenschlaf gefallen war, ist heute eine lebendige Disziplin. Aus der ursprünglich rein deskriptiven Betrachtungsweise hat sich eine dynamische Biochemie des Gehirns und seiner Funktionen entwickelt. Schlüsselsubstanzen dieser dynamischen Biochemie sind die endogenen Amine des Zentralnervensystems. Ihre Biosynthese, Speicherung, Freisetzung und ihr Stoffwechsel werden hier vom Standpunkt des organischen Chemikers aus beschrieben.

## II. Biosynthese und Stoffwechsel

Der wichtigste Weg bei der Biosynthese der meisten Amine ist die Decarboxylierung der ihnen entsprechenden Aminosäuren. Die so entstehenden „biogenen Amine“ (*Guggenheim*) können durch enzymatisch katalysierte Reaktionen abgewandelt werden. Dazu gehören Konjugation, Oxydation, Methylierung, Acetylierung und Speicherung, letzteres vermutlich durch Ver-

knüpfung mit bestimmten Gruppen in Proteinen. Viele dieser Stoffwechselwege sind reversibel oder erreichen ein Gleichgewicht. Ihr Verlauf und ihre relative Bedeutung hängen vom Amin ab, von der Art der peripheren Applikation oder der zentralen Bildung, von der Anwesenheit von Arzneimitteln und von der Tierart, an der man das Amin untersucht. Einige Stoffwechselwege lassen sich nur *in vitro* nachweisen, andere sind Ausweichreaktionen oder Nebenschlußwege, die man *in vivo* nach der Blockierung der gewöhnlichen Reaktionskette findet. Die vorliegende Arbeit versucht, ein breites Bild aller möglichen Stoffwechselwege [1] zu entwerfen. Viele Amine und ihre Stoffwechselprodukte werden mit Schwefelsäure oder Glucuronsäure konjugiert ausgeschieden. Der Kürze und Übersichtlichkeit halber sei dieser Aspekt des Aminstoffwechsels hier vernachlässigt.

### 1. Dopamin

Die Hauptwege des Dopaminstoffwechsels sind im Schema 1 durch fette Pfeile gekennzeichnet. In der Ratte wird  $^{14}\text{C}$ -Dopamin (1) [2, 3] vor allem zur Homoprotocatechusäure (2) desaminiert (ca. 80 %) und zum

[\*] Diese erweiterte und auf den neuesten Stand (Literatur bis März 1963) gebrachte Fassung von Vorträgen in Tokio [Mai 1961, vgl. *Kagaku-no-Ryoiki* (J. Japanese Chem.) 15, 909 (1961)], Basel, Höchst und Ingelheim (Sommer 1962) ist dem verdienstvollen Herausgeber und kultivierten Kenner der Literatur und schönen Künste, *Wilhelm Foerst*, mit herzlichen Wünschen zum 65. Geburtstag gewidmet.

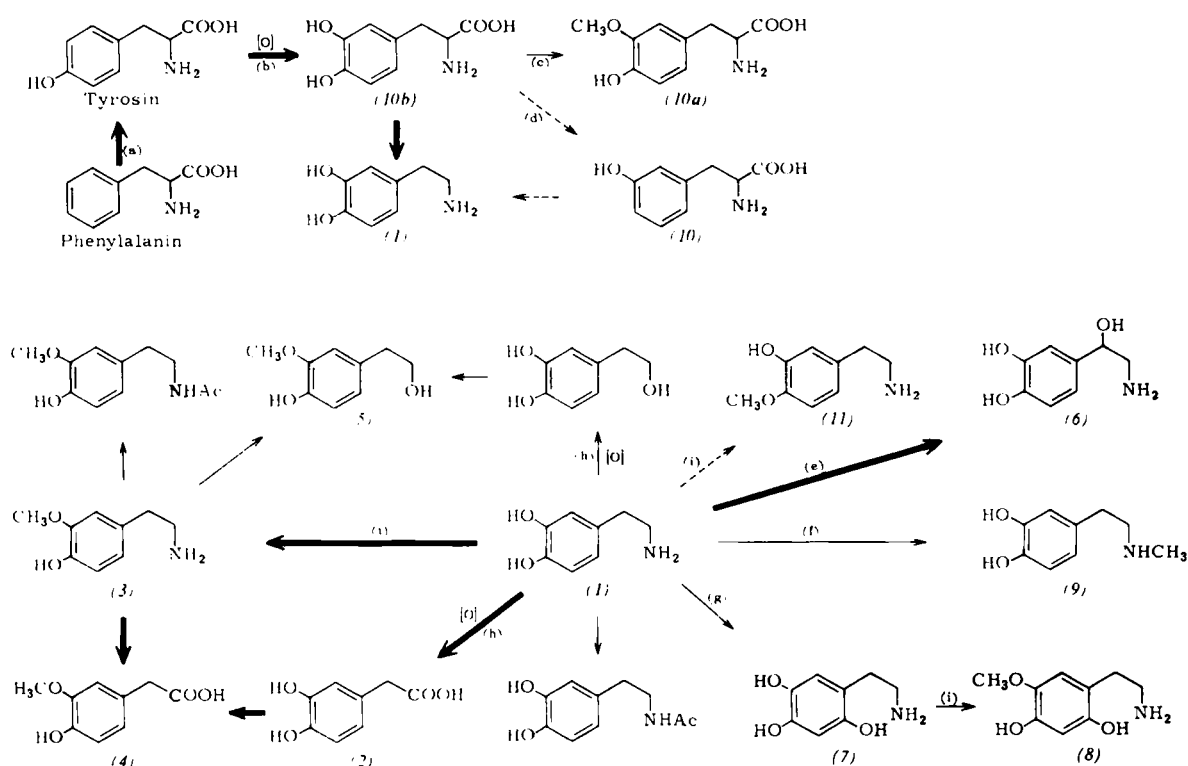
[1] *J. Axelrod*, *Physiol. Rev.* 39, 751 (1959).

[2] *C. M. Williams*, *A. A. Babuscio* u. *R. Watson*, *J. Physiology* 199, 722 (1960).

[3] *M. Goldstein*, *A. J. Friedhoff* u. *C. Simmons*, *Biochim. biophysica Acta* 33, 572 (1959).

3-Methoxytyramin (3) (20 %) methyliert. Als wichtigstes Ausscheidungsprodukt erscheint Homovanillinsäure (4) im Urin. Nach der Behandlung des Tieres mit einem Monoaminoxidase-Hemmer (MAO-Hemmer) tritt im Urin ein bisher nicht identifiziertes Stoffwechselprodukt auf [2]. Andere mengenmäßig weniger wichtige Stoffwechselprodukte sind Alkohole und N-Acetyl-derivate [4–6], deren relative physiologische Bedeutung sich gegenwärtig kaum abschätzen läßt.

adrenalin (6) nicht nur isomer, sondern auch „isographisch“, d. h. die beiden Stoffe lassen sich durch reguläre Papierchromatographie in vielen Lösungsmittelsystemen nicht trennen. Die Trennung gelingt nach der Methylierung der im Noradrenalin (6) an der Seitenkette stehenden OH-Gruppe mit wasserfreier methanolischer Salzsäure. Ratten bilden das Amin (7) in kleiner Menge in vivo aus  $^{14}\text{C}$ -Dopamin [8]. Auch eines der möglichen O-Methylierungsprodukte, das 2,4-Dihy-



**Schema 1. Biosynthese und Stoffwechsel des 3,4-Dihydroxy-phenäthylamins [Dopamins, (1)]**

- (a): Phenylalanin-Hydroxylase
- (b): enzymatische oder nichtenzymatische Hydroxylierung (?)
- (c): Catechol-O-Methyltransferase (unspezifisch)
- (d): enzymatische Enthydroxylierung am Kern (?)
- (e): Dopamin- $\beta$ -Hydroxylase (unspezifisch)

- (f): in *Bufo marinus*  
(g): nichtenzymatisch (?)  
(h): Monoaminoxidase, Alkohol-Dehydrogenase oder Aldehyd-Oxydase  
(i): Catechol-O-Methyltransferase  
Fette Pfeile bezeichnen Hauptwege des Stoffwechsels.

Rattenhirn-Homogenate setzen Dopamin vor allem zu Homoprotocatechusäure (2), etwas 3-Methoxytyramin (3), einem nicht identifizierten Amin [7] und zu 3-Methoxy-4-hydroxyphenyläthanol (5) [5] um. Dopamin kann sowohl an der Seitenkette [zu Noradrenalin (6)] als auch am aromatischen Kern hydroxyliert werden. 2,4,5-Trihydroxyphenäthylamin (7) („6-Hydroxydopamin“) entsteht aus Dopamin glatt durch Autoxydation [8] oder unter Mitwirkung des hydroxylierenden Systems von *Udenfriend* [9]. Das Amin (7) ist mit Nor-

droxy-5-methoxyphenäthylamin (8), ist in der Ratte mit  $^{14}\text{C}$ -Dopamin in vivo nachgewiesen worden [10]. Es ist vielleicht mit dem nicht identifizierten Amin identisch, über das Williams und Mitarbeiter [2] berichteten. N-Methyldopamin (9) (Epinin) hat man zuerst in den Ohrspeicheldrüsen der südamerikanischen Kröte *Bufo marinus* gefunden [11]. Gibt man Ratten DL-m-Tyrosin (10), so scheiden sie vermehrt Dopamin (1) im Urin aus [12]. Die Ausscheidung von Verbindungen wie 3-Methoxytyrosin (10a) und Dopa (10b) [13] durch Patienten mit einem Neuroblastom hat diagnostischen Wert. Während die Umwandlung von Dopamin in 3-Hydroxy-4-methoxyphenäthylamin (11) (10 %) und in

- [4] *M. Goldstein, A. J. Friedhoff, S. Pomerantz u. C. Simmons, Biochim. biophysica Acta* 39, 189 (1960).
- [5] *M. Goldstein, A. J. Friedhoff, S. Pomerantz u. J. F. Contrera, J. biol. Chemistry* 236, 1816 (1961).
- [6] *M. Goldstein u. J. M. Musacchio, Biochim. biophysica Acta* 58, 607 (1962).
- [7] *M. Goldstein, A. J. Friedhoff, C. Simmons u. N. M. Prochoroff, Experientia* 15, 254 (1959).
- [8] *S. Senoh, C. R. Creveling, S. Udenfriend u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc.* 81, 1768 (1959).
- [9] *S. Udenfriend u. J. R. Cooper, J. biol. Chemistry* 194, 503 (1952).

- [10] J. W. Daly, L. Horner u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 83, 4787 (1961).
- [11] F. Märki, J. Axelrod u. B. Witkop, Biochim. biophysica Acta 58, 367 (1962).
- [12] T. L. Sourkes, G. F. Murphy u. A. Rabinovitch, Nature (London) 189, 577 (1961).
- [13] W. von Studnitz, Scand. J. clin. Lab. Invest. 12, Suppl. 48 (1960).

3-Methoxytyramin (3) (90 %) durch Catechol-O-Methyltransferase (COMT) in vitro bekannt ist, hat man eine Methylierung der zur Seitenkette p-ständigen OH-Gruppe im Dopamin (1) in vivo bisher nicht nachgewiesen [14].

## 2. Noradrenalin

Nach Applikation von Noradrenalin (6) erscheinen im menschlichen Urin vor allem „Vanillylmandelsäure“, Normetanephrin (12) und 3,4-Dihydroxymandelsäure (13) [15] (siehe Schema 2). Daneben treten einige nicht identifizierte Stoffwechselprodukte auf [15], von denen

[14] S. Senoh, J. Daly, J. Axelrod u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 81, 6240 (1959).

[15] McC. Goodall, M. Kirschner u. L. Rosen, J. clin. Invest. 38, 707 (1959).

eines Vanillinsäure (14) zu sein scheint [16]. 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglykol (15) ist ein Hauptprodukt des Noradrenalin-Stoffwechsels bei der Ratte [17]. Die Isolierung von N-Acetylnormetanephrin (16) [18] erinnert an das Vorkommen des sclerotisierenden N-Acetyldopamins bei Insekten [19]. N-Acetyldopamin und möglicherweise N-Acetylnoradrenalin wurden in einem Fall von Phäochromocytom beobachtet [19a]. Tolbut-

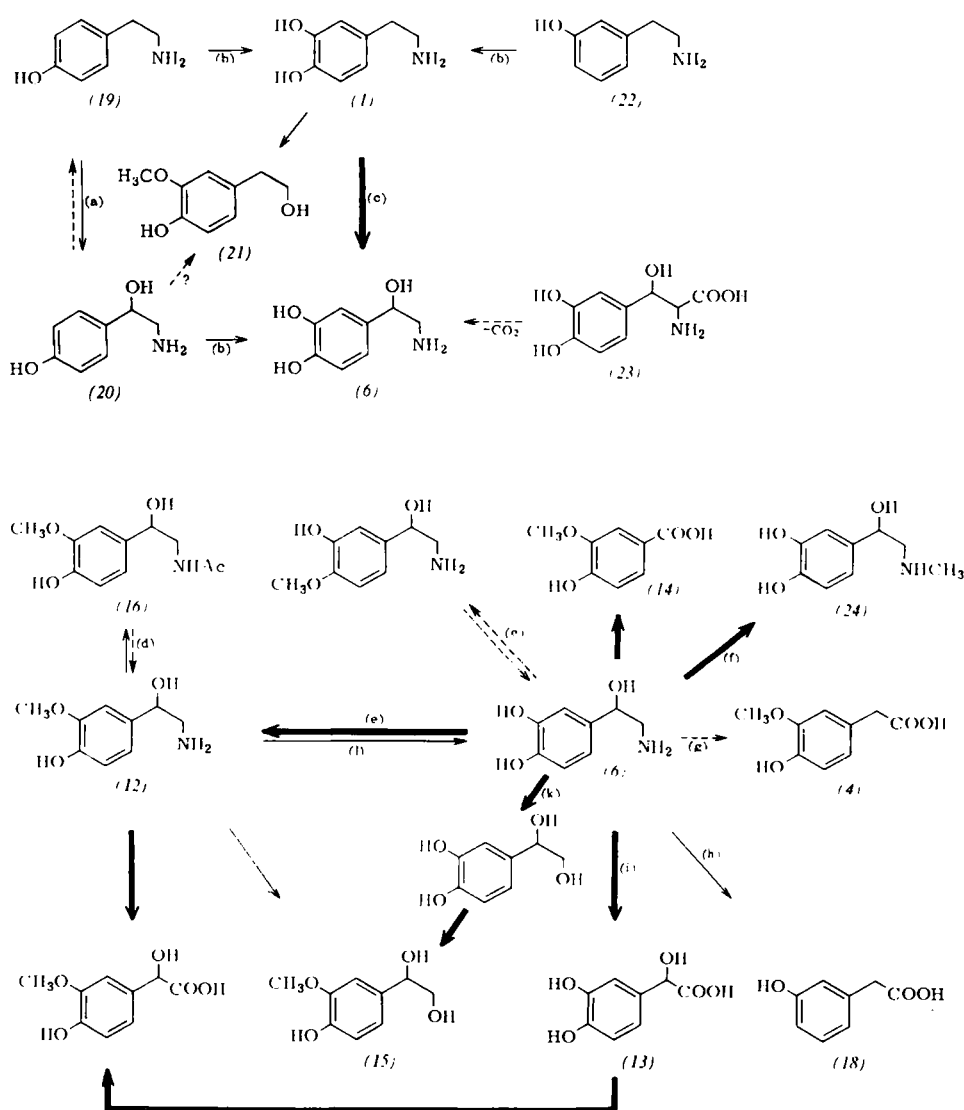
[16] L. Rosen u. McC. Goodall, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 110, 767 (1962).

[17] J. Axelrod, I. J. Kopin u. J. S. Mann, Biochim. biophysica Acta 36, 576 (1959).

[18] A. A. Smith u. S. B. Wortis, Biochim. biophysica Acta 60, 420 (1962); H. Weissbach, B. G. Redfield u. J. Axelrod, Biochim. biophysica Acta 54, 190 (1961).

[19] C. E. Sekeris u. P. Karlson, Biochim. biophysica Acta 62, 103 (1962).

[19a] C. E. Sekeris u. P. Herrlich, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 331, 289 (1963).



Schema 2. Biosynthese und Stoffwechsel des Noradrenalins (6).

(a): Dopamin- (Phenäthylamin-)  $\beta$ -Oxydase (?)

(b): unspezifische Kern-Hydroxylase

(c): Dopamin- $\beta$ -Oxydase

(d): unspezifische, lösliche N-Acetylase

(e): Catechol-O-Methyltransferase

(f): unspezifische Phenyläthanolamin-N-Methyltransferase

(g): Monoaminoxidase, Seitenketten-Enthydroxylierung (in Gegenwart von Tolbutamid)

(h): Enthydroxylierung am Kern und an der Seitenkette (über Zwischenprodukte?)

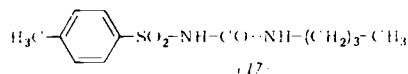
(i): Monoaminoxidase, unspezifische Aldehyd-Oxydase

(k): Monoaminoxidase, Alkohol-Dehydrogenase

(l): unspezifische Desmethylase aus Mikrosomen.

Fette Pfeile bezeichnen Hauptwege des Stoffwechsels.

amid (17) lenkt den Stoffwechsel von Noradrenalin (6) (in Meerschweinchen), Dopamin (1) und Normetanephrin (12) [20] so, daß Homovanillinsäure (4) und m-Hydroxyphenylelessigsäure (18) entstehen [21,22]. Der Verlauf des so geänderten Stoffwechsels ist nicht bekannt. Die Entfernung einer phenolischen OH-Gruppe



aus einem Brenzcatechin-Derivat hat man bei Kaninchen und Ratten früher schon im Stoffwechsel der 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure [23,24] und der Protocatechusäure [25] beobachtet. Die Enthydroxylierung von Phenäthanolaminen oder ihren Stoffwechselprodukten in der Seitenkette ist jedoch eine neue Reaktion, und einiger Vorbehalt ist angebracht. So stimmen beispielsweise die in der vorläufigen Mitteilung [20] angegebenen  $R_F$ -Werte mit denen von Homovanillinsäure und m-Hydroxyphenylelessigsäure nur schlecht überein. Die Enthydroxylierung von Brenzcatechin-Derivaten ist im Prinzip die Umkehrung der Hydroxylierung: in beiden Fällen könnte ein Dihydroxy-dihydrobenzol-Derivat als Zwischenprodukt auftreten.

Kürzlich hat man gefunden, daß sich Noradrenalin (6) auch aus Tyramin (19) oder Octopamin (20) bilden kann [28]. Beide sind natürlich vorkommende Amine [26,27]. Die relative Bedeutung dieses Bildungsweges ist unbekannt. Tyramin (19) wird durch das verhältnismäßig unspezifische Enzym Dopamin- $\beta$ -Oxydase zu Octopamin (20) oxydiert [29]. Die Hydroxylierung des Octopamins (20) am aromatischen Ring zum Noradrenalin (6) muß noch in vitro nachgewiesen werden. Die Situation wird dadurch kompliziert, daß aus Octopamin (20) im Stoffwechsel ein Phenol entsteht, das sich vom Noradrenalin (6) unterscheidet, durch Catechol-O-Methyltransferase methyliert wird und mit Perjodat nicht reagiert, was auf eine Modifikation der Äthanolamin-Seitenkette schließen läßt (21) [30]. Andere phenolische Amine wie p- (19) und m-Tyramin (22) oder N-Methyloctopamin [Synephrin, (31) im Schema 3] werden glatt zu Dopamin (1) bzw. Adrenalin (24) hydroxyliert [31].

Eine andere Möglichkeit für die Biosynthese des Noradrenalins (6) ist die Decarboxylierung von 3,4-Dihydroxyphenyl-

serin (23) [32, 33]. Allerdings spricht manches gegen diesen Weg: es ist nicht bekannt, daß 3,4-Dihydroxyphenylserin in der Natur vorkommt, und die Dopamin- $\beta$ -Oxydase ist zur  $\beta$ -Oxydation von Aminosäuren wie Tyrosin und Dopa (10b) nicht in der Lage [34]. Es gibt aber in Pflanzen ein Enzym, das diese Reaktion katalysieren kann [35].

Die N-Methylierung von Noradrenalin (6) zum Adrenalin (24) bewerkstelligt die Nebenniere [36].

Anfängliche Meinungsverschiedenheiten über die relative Bedeutung der Monoaminoxidase und der Catechol-O-Methyltransferase im Stoffwechsel haben sich etwas ausgeglichen. Peripherer und zentraler Stoffwechsel stimmen nicht notwendig überein. Mit Herz- und Gehirnhomogenaten, in denen Monoaminoxidase oder Catechol-O-Methyltransferase gehemmt sind [37], findet man, daß die Oxydation von Noradrenalin (6) durch Monoaminoxidase Hauptweg des Stoffwechsels ist. Dagegen herrscht im durchströmten Herz [38,39] bei der Freisetzung des Noradrenalins die O-Methylierung vor. Appliziertes Noradrenalin wird vom Gewebe äußerst rasch gebunden [40] und nur langsam zum Umsatz im Stoffwechsel freigegeben. Selbst im Stoffwechsel der D- und L-Formen des Noradrenalins beobachtet man beträchtliche Unterschiede [40a].

### 3. Adrenalin

Der Stoffwechsel des Adrenalins (24) (Schema 3) ähnelt dem des Noradrenalins. Quantitative Untersuchungen mit  $7\text{-}^3\text{H}$ -Adrenalin hoher spezifischer Aktivität beim Menschen ermöglichten es, 97 % der im Urin auftretenden Radioaktivität bekannten Stoffwechselprodukten zuzuordnen [41]. Das Maß der Ausscheidung über die Galle hängt vom Ort der Infusion ab. Sie beträgt 10 % bei intrajugularer, 31 % bei intraportaler [\*] Infusion und ähnelt in der Art der ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte der Eliminierung über den Urin [42]. Durch doppelte Markierung des Adrenalins (24) ließ sich beim Menschen die relative Bedeutung der 3-O-Methylierung und der Desaminierung ermitteln [43,44]: 70 % des in-

[20] A. Smith, M. Fabrykant, S. Gitlow u. S. B. Wortis, *Nature* (London) 193, 577 (1962).

[21] A. A. Smith, *Biochim. biophysica Acta* 69, 203 (1963).

[22] A. A. Smith u. S. B. Wortis, *Fed. Proc.* 22, 388 (1963).

[23] F. De Eds, A. N. Booth u. F. T. Jones, *J. biol. Chemistry* 225, 615 (1957).

[24] R. R. Scheline, R. T. Williams u. J. G. Wit, *Nature* (London) 188, 849 (1960).

[25] J. C. Dacre u. R. T. Williams, *Biochem. J.* 84, 81 P (1962).

[26] J. B. Jepson, W. Lovenberg, P. Zaltzman, J. A. Oates, A. Sjordmsa u. S. Udenfriend, *Biochem. J.* 74, 5 P (1960).

[27] J. J. Pisano, *Clin. chim. Acta* 5, 406 (1960).

[28] C. R. Creveling, M. Levitt u. S. Udenfriend, *Life Science* 1, 523 (1962).

[29] J. J. Pisano, C. R. Creveling u. S. Udenfriend, *Biochim. biophysica Acta* 43, 566 (1960).

[30] J. W. Daly u. J. Axelrod, unveröffentlicht.

[31] J. Axelrod, *Science* (Washington), 140, 499 (1963).

[32] W. J. Hartman, R. S. Pogrud, W. Drell u. W. J. Clark, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 817 (1955).

[33] C. G. Schmitterlow, *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy* 6, 127 (1931).

[34] C. R. Creveling, J. W. Daly, B. Witkop u. S. Udenfriend, *Biochim. biophysica Acta* 64, 125 (1962).

[35] J. E. Gander, *Fed. Proc.* 18, 232 (1959).

[36] N. Kirschner u. McC. Goodall, *Biochim. biophysica Acta* 24, 658 (1957).

[37] J. R. Crout, C. R. Creveling u. S. Udenfriend, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 132, 269 (1961).

[38] I. J. Kopin, G. Hertting u. E. K. Gordon, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 138, 34 (1962).

[39] C. A. Chidsey, R. L. Kahler, L. L. Kelminson u. E. Braunwald, *Circulation Res.* 12, 220 (1963).

[40] L. G. Whithy, J. Axelrod u. H. Weil-Malherbe, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 132, 193 (1961).

[40a] I. J. Kopin u. W. Bridgers, *Life Sciences* 2, 365 (1963).

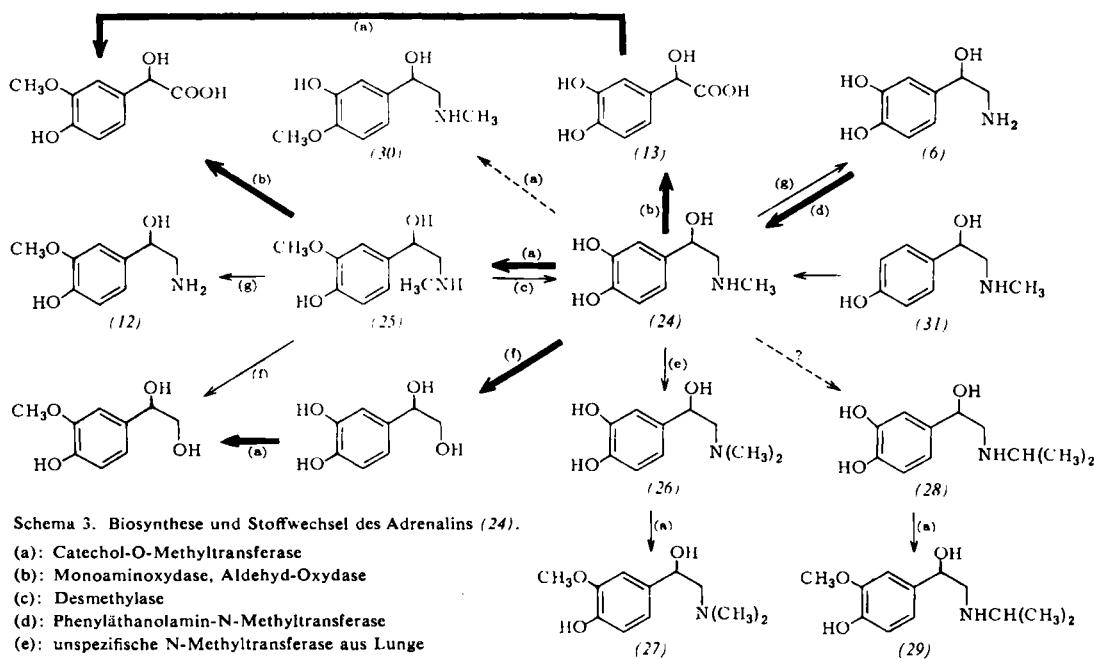
[41] E. H. LaBrosse, J. Axelrod, I. J. Kopin u. S. S. Kety, *J. clin. Invest.* 40, 253 (1961).

[\*] Intrajugular – in die Kehrlader; intraportal – in die Pfortader.

[42] G. Hertting u. E. H. LaBrosse, *J. biol. Chemistry* 237, 2291 (1962).

[43] I. J. Kopin, *Science* (Washington) 131, 1372 (1960).

[44] I. J. Kopin, J. Axelrod u. E. Gordon, *J. biol. Chemistry* 236, 2109 (1961).



Schema 3. Biosynthese und Stoffwechsel des Adrenalins (24).

- (a): Catechol-O-Methyltransferase  
 (b): Monoaminoxidase, Aldehyd-Oxydase  
 (c): Desmethylase  
 (d): Phenyläthanolamin-N-Methyltransferase  
 (e): unspezifische N-Methyltransferase aus Lunge  
 (f): Monoaminoxidase, Alkohol-Dehydrogenase  
 (g): unspezifische N-Desmethylase aus Mikrosomen

Fette Pfeile bezeichnen Hauptwege des Stoffwechsels.

fundierten Adrenalins werden zuerst desaminiert. Wie beim Noradrenalin sind bei der Ratte Glykole die Hauptprodukte des Adrenalins, während sie beim Menschen nur in geringer Menge auftreten [17,45]. Katzen scheiden nach der Applikation von 2-<sup>14</sup>C-Adrenalin im Urin Metanephrin (25), Mandelsäuren und Glykole aus sowie drei nicht identifizierte saure oder neutrale Stoffe und ein nicht identifiziertes Amin [46]. Das Amin wird zu einem Hauptprodukt des Stoffwechsels (35 %), wenn man in vivo oder in Gewebehomogenaten Monoaminoxidase und Catechol-O-Methyltransferase hemmt [47].

Während die mit Leberpräparaten gefundene enzymatische N-Entmethylierung von Metanephrin (25) zu Normetanephrin (12) noch in vivo nachgewiesen werden muß [48], ist über die analoge Umwandlung von 7-<sup>3</sup>H-Adrenalin (24) in Noradrenalin (6) in der Katze bereits berichtet worden [49]. In vivo führt die Methylierung des Adrenalins (24) zum tertiären Amin (26), das normalerweise in den Nebennieren auftritt [50]. Sein 3-O-Methylderivat, das N-Methylmetanephrin (27), kommt im menschlichen Urin vor [51], und zwar besonders bei Patienten mit Phäochromocytom-Tumoren [51] und bei Jugendlichen, die unter Psychosen leiden [52].

Nach der Injektion von Adrenalin, nicht aber von Noradrenalin, soll im Blut von Katzen eine Substanz auftreten,

die dem N-Isopropyl-noradrenalin (28) (Isoproterenol) gleicht [54] (die Verbindung ist in Nebennieren nachgewiesen worden [53]). Diese Beobachtung wurde von anderen Laboratorien nicht bestätigt. Im menschlichen Stoffwechsel entsteht aus Isoproterenol (28) der 3-O-Methyläther (29) [51].

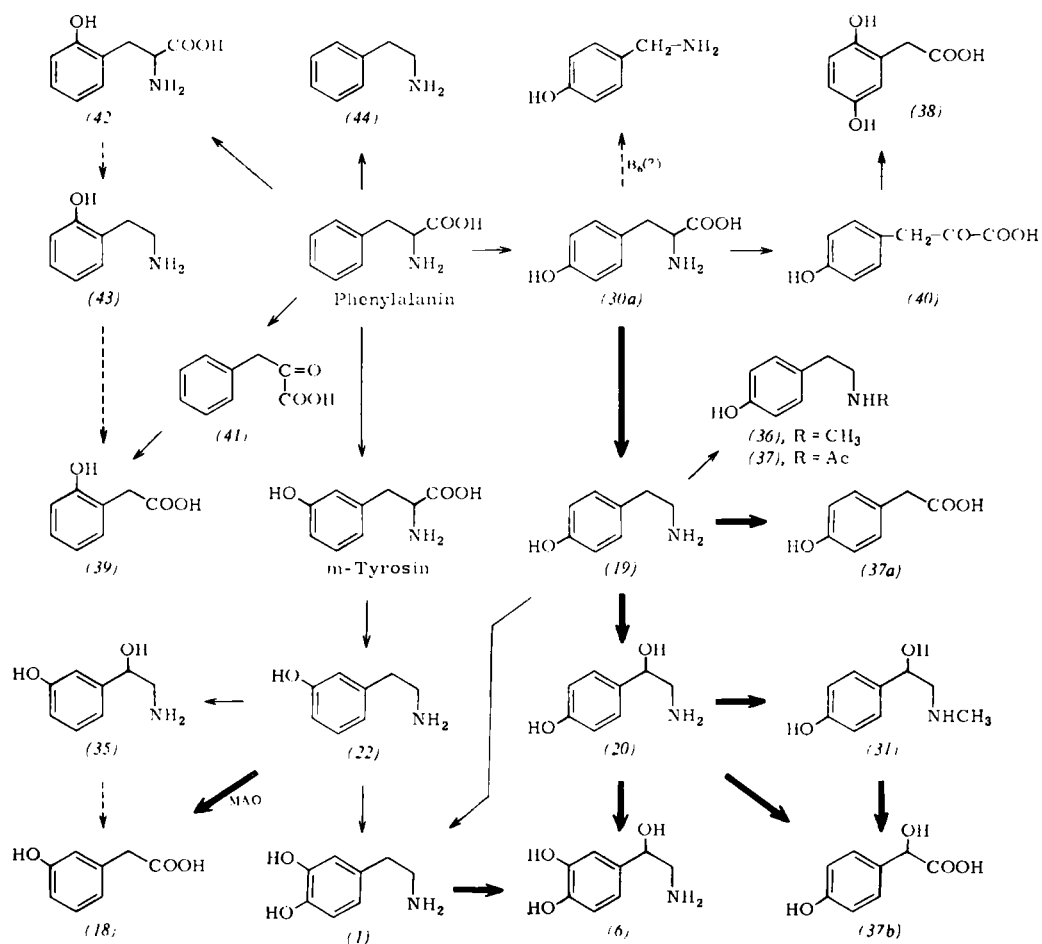
In vitro, aber nicht in vivo, wird Adrenalin (24) bis zu 10 % an der 4-OH-Gruppe zu Paranephrin (30) methyliert [55]. O-Desmethylasen, die in Mikrosomen auftreten, verwandeln Metanephrin (25) sowohl in vitro [56] als auch in vivo [44] in Adrenalin (24) zurück. Mit welcher Reaktion die Umsetzung infundierten Adrenalins im Stoffwechsel beginnt, hängt von der Art und dem Ausmaß seiner Bindung im Gewebe ab [57].

#### 4. Tyramin

Tyramin (19) entsteht aus Tyrosin (30a) unter der Mitwirkung einer unspezifischen Decarboxylase für aromatische Aminosäuren (Schema 4) [58]. Die Decarboxylierung verläuft über ein Pyridoxyliden-Derivat (32) als Zwischenprodukt [59], aus dem in Umkehrung einer Michael-Addition auch das reaktionsfähige Chinonmethin (33) entstehen kann. Anlagerung von Ammoniak (oder eines Amins) an diese Substanz würde p-Hydroxyphenylamin (34) liefern, das ein normaler Be-

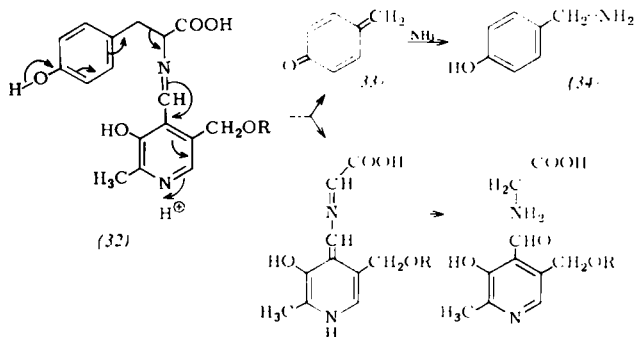
- [45] I. J. Kopin and J. Axelrod, Arch. Biochem. Biophysics 89, 148 (1960).  
 [46] N. Kirshner, L. Terry u. D. D. Pollard, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 131, 421 (1961).  
 [47] A. F. De Schaepdryver u. N. Kirshner, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 131, 433 (1961).  
 [48] J. Axelrod, Experientia 16, 502 (1960).  
 [49] W. G. Verly, G. Koch u. G. Hunbelle, Arch. int. Physiol. Biochim. 70, 624 (1962).  
 [50] J. Axelrod, Biochim. biophysica Acta 45, 614 (1960).  
 [51] C. Itoh, K. Yoshinaga, T. Sato, N. Ishida u. Y. Wada, Nature (London) 193, 477 (1962); R. Robinson u. P. Smith, Clin. chim. Acta 7, 29 (1962).  
 [52] T. L. Perry, Science (Washington) 139, 587 (1963).

- [53] M. F. Lockett, Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy 9, 498 (1954).  
 [54] K. E. Eakins u. M. F. Lockett, Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy 16, 108 (1961).  
 [55] J. W. Daly, J. Axelrod u. B. Witkop, J. biol. Chemistry 235, 1155 (1960).  
 [56] J. Axelrod u. S. Szara, Biochim. biophysica Acta 30, 188 (1958).  
 [57] J. Axelrod, H. Weil-Malherbe u. R. Tomchick, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 127, 151 (1959).  
 [58] W. Lovenberg, H. Weissbach u. S. Udenfriend, J. biol. Chemistry 237, 89 (1962).  
 [59] S. Mandel, R. Koppelman u. M. E. Hanke, J. biol. Chemistry 209, 327 (1954).

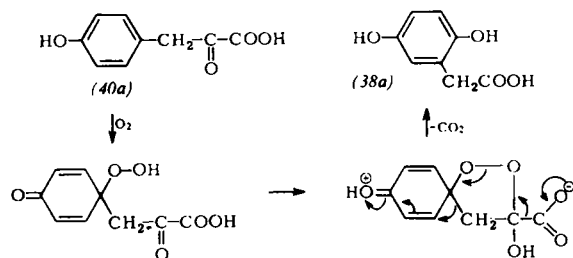


standteil menschlichen Urins ist [60]. Dieser hypothetische Biosyntheseweg gleicht dem, der für die Bildung von Gramin vorgeschlagen wurde. Gramin entsteht in der Pflanze direkt aus Tryptophan [61, 62].

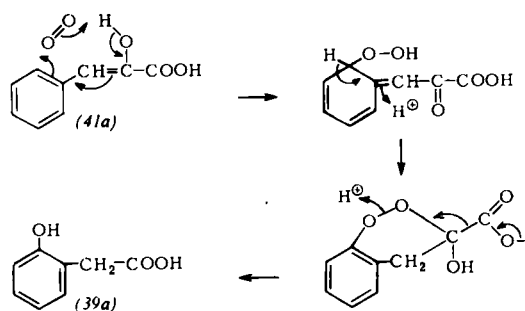
Im Urin [66] oder Blut [67] auftretende Homogentisinsäure (38) und o-Hydroxyphenyllessigsäure (39) entstehen durch Einwirkung des Enzyms p-Hydroxyphenylpyruvat-Oxydase auf p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure (40) bzw. Phenylbrenztraubensäure (41) [68,69]. Ein Mechanismus für die Bildung von Homo-



[60] Y. Kakimoto u. M. D. Armstrong, J. biol. Chemistry 237, 208 (1962).  
[61] E. Wenkert, J. Amer. chem. Soc. 84, 98 (1962).  
[62] D. O'Donovan u. E. Leete, J. Amer. chem. Soc. 85, 461 (1963).



gentisinsäure, (40a)  $\rightarrow$  (38a), ist vorgeschlagen worden [70]. Dabei muß man berücksichtigen, daß Hydroxylierung, Decarboxylierung und Wanderung der Seitenkette von einem einzigen Enzym katalysiert werden und daß es kein Anzeichen für die Existenz eines Zwischenproduktes gibt. Ein anderer Mechanismus, der die Bildung von o-Hydroxyphenylelessigsäure aus Phenylbrenztraubensäure erklärt, (41a)  $\rightarrow$  (39a), beginnt mit der



Oxydation in o-Stellung zur Seitenkette und sieht eine Decarboxylierung ohne anschließende Wanderung der Seitenkette vor. Ob dies möglich ist, wird zur Zeit untersucht.

Die Bildung von o-Hydroxyphenylelessigsäure (39) aus o-Tyrosin (42) über o-Tyramin (43) ist im Stoffwechsel wahrscheinlich von untergeordneter Bedeutung [71]. Phenäthylamin (44) tritt bei Patienten mit Phenylketonurie als Stoffwechselprodukt auf [72]. Tyramin (19) kann sowohl in Noradrenalin (6) umgewandelt werden [28], als auch im Gewebe gebundenes Noradrenalin freisetzen [73].

## 5. Serotonin und Tryptamin

Serotonin (45) entsteht aus Tryptophan (46) durch Hydroxylierung und Decarboxylierung des gebildeten 5-Hydroxytryptophans (47) mit einer Decarboxylase für aromatische Aminosäuren [58] (Schema 5). Die andere Möglichkeit, daß sich Serotonin (45) über Tryptamin (48) bildet, konnte ausgeschlossen werden [74], obgleich es in Lebermikrosomen Enzyme gibt, die eine Hydroxylierung des Tryptamins (48) an C-6 (49) katalysieren [75].

Die 6-Hydroxylierung von Indolen ist sehr verbreitet: außer Tryptamin (48) unterliegen  $\alpha$ -Methyltryptamin (50) [76], Dimethyltryptamin (51) [77], Skatol [78, 79], Melatonin (52)  $\rightarrow$  (53) [80], und Indolessigsäure (54) [75] sowohl in vivo als auch in vitro dieser Reaktion.

Man weiß nur wenig über das Enzym, das die Hydroxylierung des Tryptophans (46) katalysiert. Über seine Isolierung aus Ratten- und Meerschweinchendarm ist berichtet worden [81]. Möglicherweise tritt unter den Bedingungen, die für die Wirksamkeit des „Enzyms“ angegeben wurden, aber auch eine nichtenzymatische Hydroxylierung ein. Auch die in der Leber vorkommende Phenylalanin-Hydroxylase vermag Tryptophan (46) zu hydroxylieren [82], aber dieses Enzym spielt bei der Bildung von Serotonin (45) in vivo nur eine geringe Rolle.

Der Stoffwechsel des Serotonins (45) verläuft unter oxydativer Desaminierung (Monoaminoxidase), Acetylierung oder Konjugation [83]. Größe der Dosis und Art der Applikation beeinflussen ihn ebenso wie den Stoffwechsel der Catecholamine [1]. Große Mengen Serotonin werden hauptsächlich konjugiert, kleinere und mehr physiologische Dosen oxydativ desaminiert [84]. Der Nachweis eines Serotonin-Stoffwechselproduktes mit den Eigenschaften eines Brenzcatechin-Derivates ist noch unvollständig [83]. Das Vorkommen dieser Verbindung wäre interessant, da in Crustaceen [85] und möglicherweise in Insekten [86] 5,6-Dihydroxytryptamin (54a) als Neurohormon auftritt. 5,6-Dihydroxyindole werden mit geringer Spezifität durch Catechol-O-Methyltransferase aus Leber und spezifischer durch Hydroxyindol-O-Methyltransferase aus der Zirbeldrüse O-methyliert [87, 88]. 5-Hydroxyindol-O-Methyltransferase methyliert ein 5,6-Dihydroxyindol zu etwa 90 % an der 5-OH-Gruppe und nur zu 10 % an der 6-OH-Gruppe, während die Werte für Catechol-O-Methyltransferase 30 bzw. 70 % betragen.

5-Hydroxytryptophol (55) bildet sich im Stoffwechsel der Ratte aus Serotonin (45) [89]. Da es sich chromatographisch sehr ähnlich wie N-Acetylserotonin (56) verhält, sollten ältere Berichte [83, 90] über das Auftreten von N-Acetyl-

[75] J. B. Jepson, P. Zaltzman u. S. Udenfriend, *Biochim. biophysica Acta* 62, 91 (1962).

[76] S. Szara, *Experientia* 17, 76 (1961).

[77] S. Szara u. J. Axelrod, *Experientia* 15, 216 (1959).

[78] E. C. Horning, C. C. Sweeley, C. E. Dalglish u. W. Kelly, *Biochim. biophysica Acta* 32, 566 (1959).

[79] R. M. Acheson u. A. R. Hands, *Biochim. biophysica Acta* 51, 579 (1961).

[80] I. J. Kopin, C. M. B. Pare, J. Axelrod u. H. Weissbach, *J. biol. Chemistry* 236, 3072 (1961).

[81] J. R. Cooper u. I. Melcer, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 132, 265 (1961).

[82] J. Renson, H. Weissbach u. S. Udenfriend, *J. biol. Chemistry* 237, 2261 (1962).

[83] W. M. McIsaac u. I. H. Page, *J. biol. Chemistry* 234, 858 (1959).

[84] M. M. Airaksinen, *Biochem. Pharmacol.* 8, 245 (1961).

[85] D. B. Carlisle, *Biochem. J.* 63, 32P (1956).

[86] K. J. Davey, *Canad. J. Zool.* 38, 39 (1960).

[87] J. Axelrod u. A. B. Lerner, *Biochim. biophysica Acta*, im Druck.

[88] J. Axelrod u. H. Weissbach, *J. biol. Chemistry* 236, 211 (1961).

[89] S. Kreder, S. Iskrac u. D. Keglevič, *Biochem. J.* 85, 447 (1962).

[90] H. Weissbach, W. Lovenberg, B. C. Redfield u. S. Udenfriend, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 131, 26 (1961).

[70] S. Goodwin u. B. Witkop, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 179 (1956).

[71] J. B. Jepson, W. Lovenberg, A. Sjoerdsma, J. A. Oates, P. Zaltzman u. S. Udenfriend, *The Pharmacologist* 1, Nr. 2, S. 74 (1959).

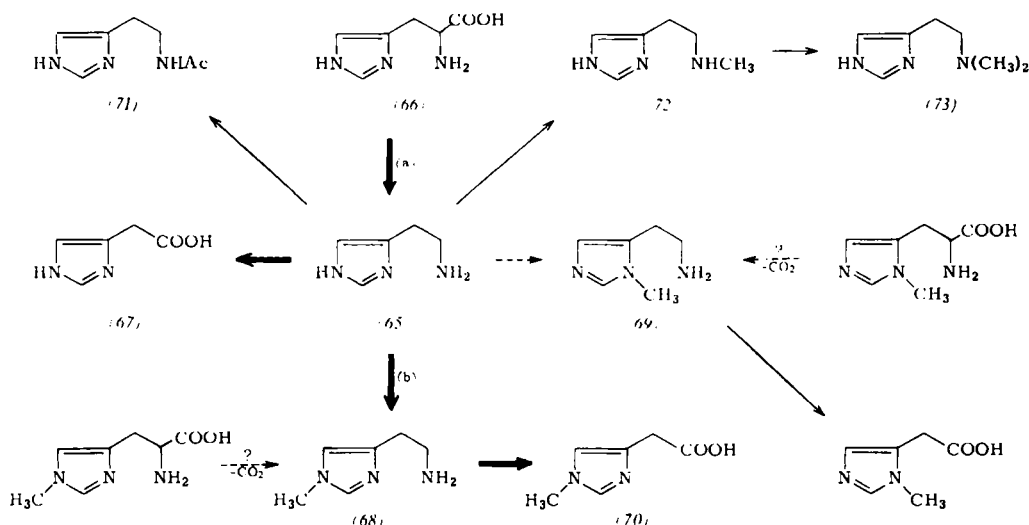
[72] J. A. Oates, P. Z. Nirenberg, J. B. Jepson, A. Sjoerdsma u. S. Udenfriend, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 112, 1078 (1963).

[73] J. Burn in J. R. Vane, G. E. W. Wolstenholme u. M. O'Connor: *Adrenergic Mechanisms*. Little, Brown and Co., Boston 1960.

[74] S. Udenfriend, C. R. Creveling, H. Posner, B. G. Redfield, J. Daly u. B. Witkop, *Arch. Biochem. Biophysics* 83, 501 (1959).





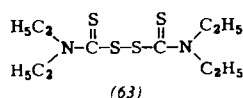


Schema 6. Biosynthese und Stoffwechsel des Histamins (65). (a): spezifische Histidin-Decarboxylase (aus Mastzellen) oder (unspezifische) Decarboxylase für aromatische Aminosäuren. (b): spezifische N-Methylase. Fette Pfeile bezeichnen Hauptwege des Stoffwechsels.

Außerdem hat die Verbindung (61) im Gegensatz zur ursprünglichen Mitteilung [97] nur eine geringe adrenoglomerulotrope Aktivität.

In einigen Systemen sind die pharmakologischen Eigenschaften des 5-Methoxytryptamins (62) ähnlich denen des Serotonins (45) [102, 103]. 5-Methoxytryptamin soll im Urin von Patienten mit rheumatischen Erkrankungen auftreten [104]. Es wird im Stoffwechsel zu 5-Methoxyindoleessigsäure (59) oxydiert [95]. Auch für Art und Umfang des Stoffwechsels infundierten Serotonins (45) spielt die Bindung im Gewebe eine Rolle [105].

Tryptamin (48), das durch Decarboxylierung von Tryptophan (46) entsteht [106], wird hauptsächlich oxydativ desaminiert (Monoaminoxydase) [90]. In Ratten, die mit Disulfiram (63) behandelt wurden, tritt neben der Indoleessigsäure (54) der Alkohol Tryptophol (64) als Hauptprodukt des Tryptamin-Stoffwechsels auf [107].



unspezifischen Decarboxylase hat keinen Einfluß auf die Histamin-Ausscheidung. Sie scheint also normalerweise für die Biosynthese des Histamins nur von geringer Bedeutung zu sein. Die Desaminierung des Histamins (65) kann durch die physiologisch wichtige Diaminoxydase oder durch Monoaminoxydase katalysiert werden [108]. In beiden Fällen entsteht Imidazolessigsäure (67). Eine zweite Möglichkeit zur physiologischen Inaktivierung des Histamins (65) besteht in der N-Methylierung durch eine spezifische Histamin-N-Methyltransferase [110], die zum 1-Methylhistamin (68) führt. Nach der Applikation großer Histamin-Mengen hat man auch 3-Methylhistamin (69) beobachtet [111]. Aus Histamin in physiologischer Dosierung bilden sich jedoch nur 1-Methylhistamin (68) und 1-Methylimidazol-4-essigsäure (70) [112]. Weitere Stoffwechselprozesse sind die N-Acetylierung (71) [113], die N-Monomethylierung (72) und die N,N-Dimethylierung (73) [114]. Nur endogen aus Histidin (66) entstehendes Histamin, nicht aber von außen zugeführtes Histamin, wird vom Gewebe gebunden [115].

## 6. Histamin [108]

Histamin, (65) im Schema 6, entsteht aus Histidin (66) durch Decarboxylierung. Diese Reaktion kann entweder durch eine unspezifische Decarboxylase für aromatische L-Aminosäuren [58] oder durch die spezifische Histidin-Decarboxylase aus Mastzellen [109] katalysiert werden. Selbst eine hundertprozentige Hemmung der

[102] R. Michaux, *Life Science* 1, 617 (1962).

[103] A. Cession-Fossion u. R. Michaux, *Life Science* 1, 483 (1962).

[104] C. H. Haddox jr. u. M. S. Saslaw, unveröffentlicht.

[105] J. Axelrod u. J. K. Inscoe, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.*, im Druck.

[106] H. Weissbach, W. King, A. Sjoerdsma u. S. Udenfriend, *J. biol. Chemistry* 234, 81 (1959).

[107] A. A. Smith u. S. B. Wortis, *Biochim. biophysica Acta* 40, 569 (1960).

[108] R. W. Shayer, *Physiol. Rev.* 39, 116 (1959).

[109] H. Weissbach, W. Lovenberg u. S. Udenfriend, *Biochim. biophysica Acta* 50, 177 (1961).

## III. Enzyme, die Biosynthese und Stoffwechsel zentral wirkender Amine katalysieren

Decarboxylierung, Hydroxylierung, O-Methylierung, oxydative Desaminierung, N-Methylierung und N-Acetylierung sind die im Amin-Stoffwechsel häufigsten Reaktionen (Schema 7). Isolierung und Untersuchung der an diesen Reaktionen beteiligten Enzyme erweitern das Verständnis für die dynamische Differenzierung des

[110] D. D. Brown, J. Axelrod u. R. Tomchik, *Nature (London)* 183, 680 (1959); vgl. A. Gustafsson u. G. P. Forshell, *Acta chem. scand.* 17, 541 (1963).

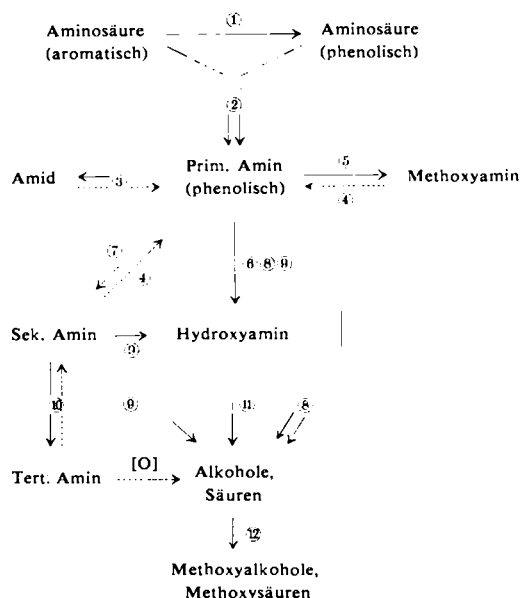
[111] S. A. Karjala u. B. W. Turnquest, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 6358 (1955).

[112] R. W. Schayer u. S. A. Karjala, *J. biol. Chemistry* 221, 307 (1956).

[113] H. Tabor u. E. Mosettig, *J. biol. Chemistry* 180, 703 (1949).

[114] R. Kapeller-Adler u. B. Iggo, *Biochim. biophysica Acta* 25, 394 (1957).

[115] R. W. Schayer, *J. biol. Chemistry* 199, 245 (1952).



Schema 7. Beziehungen zwischen Enzymen und Substraten.

- 1: Phenylalanin-Hydroxylase (unspezifisch)
- 2: Decarboxylase für aromatische Aminosäuren (unspezifisch)
- 3: N-Acetylase (unspezifisch)
- 4: Desmethylasen aus Mikrosomen (unspezifisch)
- 5: spezifische und unspezifische O-Methyltransferasen
- 6: Hydroxylierung am Kern oder an der Seitenkette
- 7: spezifische und unspezifische N-Methyltransferasen
- 8: Phenäthylamin-Hydroxylase (unspezifisch)
- 9: Hydroxylasen, die Brenzcatechine oder Monophenole bilden
- 10: N-Methyltransferasen aus Lunge (unspezifisch)
- 11: Monoaminoxidase
- 12: unspezifische O-Methyltransferasen

Stoffwechsels, doch sollte dabei nicht vergessen werden, daß in der Zelle und im Organismus weitere Faktoren, wie aktiver Transport, Membrandurchlässigkeit und deren Regulatoren, eine Rolle spielen, die sich wohl schwerlich überschätzen läßt. Die folgenden Abschnitte berichten über die Untersuchung der Enzyme, die an der Biosynthese und am Stoffwechsel der pharmakodynamisch wirksamen Amine beteiligt sind.

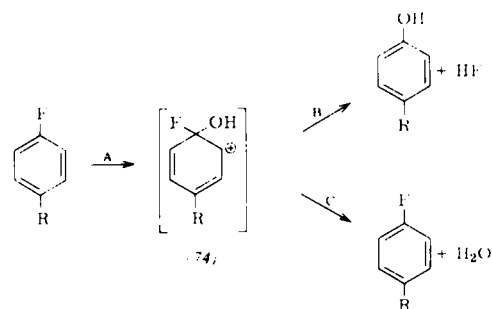
## 1. Hydroxylasen und Oxydasen für aromatische Verbindungen

Hydroxylierung und Oxydation, sofern sie biologische Amine betreffen, wurden in einigen neueren Zusammenfassungen [116–118] behandelt.

Das in der löslichen Leberfraktion vorkommende Enzym Phenylalanin-Hydroxylase braucht einen Cofaktor, wahrscheinlich ein Tetrahydropteridin-Derivat, das bei der Bildung von Tyrosin aus Phenylalanin zu einem „Dihydropteridin“ oxydiert wird. Eine TPNH-Dehydrogenase [\*], die man gewöhnlich aus Schafsleber isoliert, reduziert den Cofaktor wieder unter gleichzeitiger Oxydation von TPNH [119, 120]. Die Struktur des

Cofaktors ist aus colorimetrischen und fluorimetrischen Messungen abgeleitet worden sowie aus der Hemmung des Enzyms durch Folsäure-Antagonisten und aus der Möglichkeit, den Cofaktor durch Verbindungen wie 2-Amino-4-hydroxy-6,7-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydropteridin zu ersetzen [120]. Diese Möglichkeit zum Ersatz des Cofaktors erleichterte Untersuchungen über die Verteilung der Phenylalanin-Hydroxylase auf verschiedene Tierarten und Gewebe [121]. Die Inaktivierung des Enzyms durch Inkubation mit Äthylendiamintetraessigsäure oder Cystein läßt sich durch Eisen(II)-Ionen aufheben [119], aber es ist nicht bekannt, ob auch ein Metall-Ion als Cofaktor benötigt wird. Bei der enzymatischen Oxydation von Phenylalanin zu Tyrosin ist  $O_2$  und nicht  $H_2O$  die Sauerstoffquelle [122].

Das Enzym katalysiert auch die Oxydation von 4-Fluorphenylalanin zu Tyrosin [123]. Man hat angenommen, daß dabei eine Zwischenstufe (74) auftritt, die entweder



unter Rückbildung von 4-Fluorphenylalanin reaktiv desoxygeniert wird (Reaktion C) oder unter reduktiver Abspaltung des Fluoratoms in Tyrosin übergeht (Reaktion B). Als Hinweis für das Auftreten von Reaktion C gilt das hohe Verhältnis von TPNH-Verbrauch zu Tyrosin-Bildung: Die Reaktionen B und C verbrauchen durch Oxydation des Tetrahydropteridin-Cofaktors letzten Endes TPNH, aber nur Reaktion B führt (in Kombination mit Reaktion A) zum Tyrosin. Ob bei der Hydroxylierung des natürlichen Substrates, Phenylalanin, eine mit (74) ähnliche Zwischenstufe auftritt, ist nicht bekannt. Erste Untersuchungen an der Phenylalanin-Hydroxylase und an der Acetanilid-Hydroxylase aus Rattenleber-Mikrosomen [124] sprachen nicht für ein Zwischenprodukt mit austauschbarem Wasserstoff, aber die Ergebnisse waren nicht endgültig [125].

Hayaishi und Udenfriend [125a] konnten die Isolierung einer Tryptophan-5-Hydroxylase aus der partikulären Fraktion von Dünndarm und Niere [81] nicht reproduzieren. Charakterisierung und Hemmung dieses Enzyms sind noch immer ungelöste Probleme.

[116] H. S. Mason, *Advances in Enzymol.* 19, 79 (1957).

[117] K. Massart u. R. Vercauteren, *Ann. Rev. Biochem.* 28, 527 (1959).

[118] O. Hayaishi, *Ann. Rev. Biochem.* 31, 25 (1962).

[\*] TPNH = reduziertes Triphosphopyridinnucleotid (neuerdings als NADPH bezeichnet); TPN = Triphosphopyridinnucleotid (neuerdings als NADP bezeichnet).

[119] S. Kaufman, *J. biol. Chemistry* 234, 2677 (1959).

[120] S. Kaufman u. B. Levenberg, *J. biol. Chemistry* 234, 2683 (1959).

[121] P. J. Christenson, *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 14, 623 (1962).

[122] S. Kaufman, W. F. Bridgers, F. Eisenberg u. S. Friedman, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 9, 497 (1962).

[123] S. Kaufman, *Biochim. biophysica Acta* 51, 619 (1961).

[124] C. Mitoma, H. S. Posner, H. C. Reitz u. S. Udenfriend, *Arch. Biochem. Biophysics* 61, 431 (1956).

[125] C. Chidsey, J. Daly, Y. Kanaoka, B. Witkop u. S. Udenfriend, unveröffentlicht.

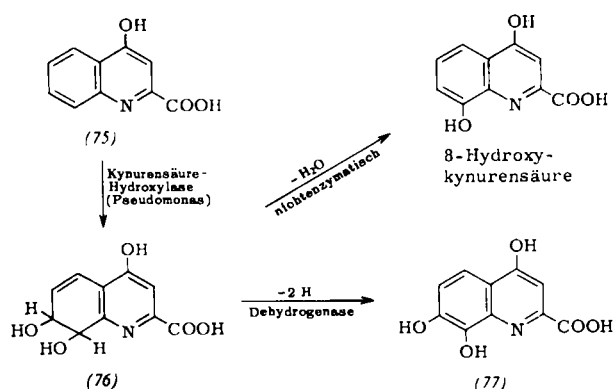
[125a] O. Hayaishi u. S. Udenfriend, persönliche Mitteilung.

Unspezifische Hydroxylasen aus Lebermikrosomen [116] hydroxylieren Indole [75–80] und aromatische Verbindungen [126].

Brenzcatechine entstehen aus Phenolen unter der Einwirkung von Tyrosinase, einer multifunktionalen Oxydase [116], die Tyrosin hydroxyliert und Dopa zum Chinon und weiter zu Melanin oxydiert. Bei der durch Tyrosinase katalysierten Hydroxylierung von  $^3\text{H}$ -markiertem 3,4-Dimethylphenol tritt ein sehr kleiner Isotopeneffekt auf [127], was für die elektrophile Substitution eines aktivierten Ringes spricht. Insekten vermögen Dopa aus Tyrosin unter dem Einfluß eines von Tyrosinase verschiedenen Enzyms zu bilden [19].

Dopa entsteht im System Ascorbinsäure/ $\text{H}_2\text{O}_2$ /Äthylendiamintetraacetat [9] auch durch nichtenzymatische Hydroxylierung aus Tyrosin [128]. Catecholamine können so aus phenolischen Aminen hervorgehen. Beispiele sind die Bildung von Dopamin (1) aus p- (19) und m-Tyramin (22) oder von Adrenalin (24) aus N-Methyloctopamin (31) [31].

Vorstufen der Brenzcatechin-Derivate sind möglicherweise Dihydrodirole. Ein solches instabiles Diol (76) ist als Zwischenprodukt bei der Bildung von 7,8-Dihydroxykynurensäure (77) aus Kynurensäure (75) isoliert worden [129]. Enzyme, welche die Dehydrierung von Dihydrodiolen katalysieren, kommen in Säugetiergeweben vor [130]. Dihydrodirole und Phenole könnten



bei der Hydroxylierung in Mikrosomen aus einem gemeinsamen (epoxyd-artigen?) Zwischenprodukt entstehen [131]. Prinzipiell lassen sich Dihydrodirole auch als Zwischenstufen bei der Enthydroxylierung von Brenzcatechinen zu Phenolen annehmen [21–25].

Zu den Enzymen, welche die Oxydation von Hydroxyindolen zu chinon-ähnlichen Produkten katalysieren, gehören das Enzym aus der Kiemenplatte von *Mytilus* [132], das in Säuge-

tieren vorkommende Coeruloplasmin [133] und die Cytochrom-Oxydase [134]. Coeruloplasmin [135] und Cytochrom-Oxydase [136] oxydieren auch Catecholamine zu Aminochromen. Der Verlauf dieser Reaktion ist spektrophotometrisch und mit Hilfe der Elektronenspinresonanz untersucht worden [137]. Eine in Speicheldrüsen vorkommende Oxydase überführt Catecholamine in Aminochrome [138], die mit Hydrazinen zu Derivaten reagieren, die sich extrahieren und quantitativ bestimmen lassen.

## 2. Decarboxylasen

Ein aus der löslichen Fraktion von Meerschweinchen-Niere angereichertes Enzym decarboxyliert mehrere Aminosäuren. Es ist als Decarboxylase für aromatische L-Aminosäuren (aromatic L-amino acid decarboxylase) bezeichnet worden [58]. Cofaktor dieses Enzyms ist Pyridoxalphosphat, dessen reaktionsfähige Aldehydgruppe mit Aminen wie Noradrenalin [139] unter Bildung von Tetrahydroisochinolin-Derivaten [140] kondensieren kann. Diese Nebenreaktion führt bei der enzymatischen Dopa-Bestimmung unter Umständen zu Schwierigkeiten. Das Enzym decarboxyliert auch  $\alpha$ -Methylaminosäuren, obwohl sie in vitro und in vivo als kompetitive Inhibitoren wirken [141]. Das aus Rattenleber angereicherte Enzym soll nicht in der Lage sein, p-Tyrosin, Histidin und Tryptophan zu decarboxylieren [142], doch ist dieser Befund möglicherweise auf ungenügende Analysenmethoden zurückzuführen. Am besten eignet sich die Spektrofluorimetrie zur Untersuchung der Reaktion [143]. Nicht decarboxyliert werden N-acetyliertes 5-Hydroxytryptophan, 5-Alkoxytryptophane [144] sowie 5- und 6-Methyltryptophan [143].

Bei der Decarboxylierung von Tyrosin (78) zu Tyramin (79) bleibt die Konfiguration erhalten, was sich mit schwerem Wasser nachweisen ließ [145].



Neben den  $\alpha$ -Methylaminosäuren gibt es zahlreiche weitere Inhibitoren für die Decarboxylase [146]. Ein wirksamer Hemmstoff ist das Hydrazin-Analoge des  $\alpha$ -Methyldopa. Es

- [126] C. Mitoma, H. S. Posner, H. C. Reitz u. S. Udenfriend, Arch. Biochem. Biophysics 61, 431 (1956); H. S. Posner, C. Mitoma u. S. Udenfriend, ibid. 94, 269 (1961).  
 [127] B. J. Wood u. L. L. Ingraham, Arch. Biochem. Biophysics 98, 479 (1962).  
 [128] S. Udenfriend, C. T. Clark, J. Axelrod u. B. B. Brodie, J. biol. Chemistry 208, 731 (1954).  
 [129] H. Taniuchi u. O. Hayaishi, J. biol. Chemistry 238, 283 (1963).  
 [130] P. K. Ayengar, O. Hayaishi, M. Nakajima u. I. Tomida, Biochim. biophysica Acta 33, 111 (1959).  
 [131] H. S. Posner, C. Mitoma, S. Rothberg u. S. Udenfriend, Arch. Biochem. Biophysics 94, 280 (1961).  
 [132] H. Blaschko u. W. G. Levine, Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy 15, 625 (1960).

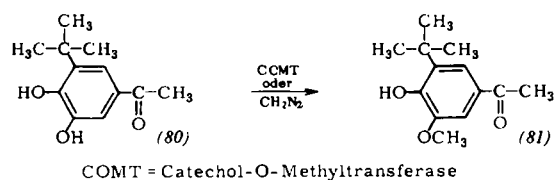
- [133] C. C. Porter, D. C. Titus, B. E. Sanders u. Eve Smith, Science (Washington) 126, 1014 (1957).  
 [134] L. J. Weber u. A. Horita, Life Science 2, 44 (1963).  
 [135] E. Walaas u. O. Walaas, Arch. Biochem. Biophysics 95, 151 (1961).  
 [136] D. E. Green u. D. E. Richter, Biochem. J. 31, 596 (1937).  
 [137] E. Walaas, O. Walaas, S. Haavaldsen u. B. Pedersen, Arch. Biochem. Biophysics 100, 97 (1963).  
 [138] J. Axelrod, Fed. Proc. 22, 388 (1963).  
 [139] J. A. Buzard u. P. D. Nych, J. biol. Chemistry 234, 884 (1959).  
 [140] H. F. Schott u. W. G. Clark, J. biol. Chemistry 196, 449 (1952).  
 [141] J. A. Oates, L. Gillespie, S. Udenfriend u. A. Sjoerdsma, Science (Washington) 131, 1890 (1960).  
 [142] J. Awapara, R. P. Sandman u. C. Hanly, Arch. Biochem. Biophysics 98, 520 (1962).  
 [143] W. Lovenberg, H. Weissbach u. S. Udenfriend, J. biol. Chemistry 237, 89 (1962).  
 [144] V. Erspamer u. M. B. Nobili, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 139, 433 (1962); V. Erspamer, V. Glässner, C. Pasini u. G. Stoppani, Nature (London) 189, 483 (1961).  
 [145] B. Belleau u. J. Burba, J. Amer. chem. Soc. 82, 5751 (1960).  
 [146] W. G. Clark, Pharmacol. Rev. 11, 330 (1959).

kann jedoch die Blut-Hirn-Schranke nicht ohne weiteres überschreiten [147] und ist selbst auch Substrat für die Decarboxylase [148].

Auch die in Mastzellen vorkommende spezifische Histidin-Decarboxylase [109] benötigt Pyridoxalphosphat als Cofaktor [149]. Sie wird durch  $\alpha$ -Methylaminosäuren nicht gehemmt; eine Ausnahme macht  $\alpha$ -Methylhistidin, das in hoher Konzentration ein spezifischer Inhibitor ist [150,151]. Einige Benzyloxyamine und Benzylhydrazine hemmen sowohl die Decarboxylase für aromatische L-Aminosäuren als auch die Histidin-Decarboxylase kräftig [151–154].

### 3. Catechol-O-Methyltransferase (COMT)

Die wichtigste Rolle der Catechol-O-Methyltransferase im Stoffwechsel der Catecholamine konnte erwiesen werden [1], nachdem es gelungen war, das Enzym zu isolieren [155]. Es benötigt  $Mg^{2+}$ -Ionen und S-Adenosylmethionin als Cofaktoren und methyliert nur solche Verbindungen, die einen Brenzcatechin-Rest enthalten. Normalerweise wird die zur Seitenkette m-ständige OH-Gruppe bevorzugt methyliert, es sei denn, die Seitenkette wäre ein elektronensaugender Rest (eine Carbonylgruppe). In diesem Fall nimmt die Methylierung der p-OH-Gruppe zu, die der m-OH-Gruppe wird geringer [14]. Eine p-O-Methylierung von Catecholaminen ist außer beim Adrenalin und Arterenon [55] – bisher nur in vitro nachgewiesen worden [14,55]. Aus einem sterisch behinderten Brenzcatechin, z. B. dem 5-t. Butyl-3,4-dihydroxyacetophenon (80), entsteht ausschließlich das 3-O-Methylderivat (81) [156].



Aus Pyrogallol und seinen Derivaten entstehen bei der enzymatischen Methylierung mehrere O-Methylverbindungen [157–159]. Gewöhnlich, doch nicht immer, wird

[147] C. C. Porter, L. S. Watson, D. C. Titus, J. A. Totaro u. S. S. Byer, *Biochem. Pharmacol.* 11, 1067 (1962).

[148] S. Udenfriend, R. Connamacher u. S. M. Hess, *Biochem. Pharmacol.* 8, 419 (1961).

[149] P. Hagen, N. Weiner, S. Ono u. F. L. Lee, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 130, 9 (1960).

[150] D. Mackay u. D. M. Shepherd, *Biochim. biophysica Acta* 59, 553 (1962).

[151] J. D. Reid u. D. M. Shepherd, *Life Science* 2, 5 (1963).

[152] D. J. Drain, M. Horlington, R. Lazare u. G. A. Poulter, *Life Science* 1, 93 (1962).

[153] B. B. Brodie, R. Kuntzman, C. W. Hirsch u. E. Costa, *Life Science* 1, 81 (1962).

[154] W. P. Burkard, K. F. Gey u. A. Pletscher, *Experientia* 18, 411 (1962).

[155] J. Axelrod u. R. Tomchik, *J. biol. Chemistry* 233, 702 (1958).

[156] T. Matsuura, A. Nichinaga u. H. J. Calhmann, *J. org. Chemistry* 27, 3620 (1962).

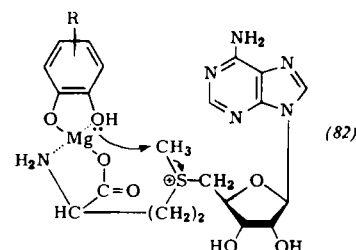
[157] S. Archer, A. Arnold, R. K. Kullniq u. D. W. Wylie, *Arch. Biochem. Biophysics* 87, 153 (1960).

[158] A. N. Booth u. F. DeEds, *Biochim. biophysica Acta* 65, 495 (1962).

[159] J. W. Daly, J. Axelrod u. B. Witkop, *Ann. New York Acad. Sci.* 96, 37 (1961).

in Pyrogallol-Derivaten die 2-OH-Gruppe bevorzugt methyliert.

Weitere Untersuchungen an der Catechol-O-Methyltransferase haben die frühere Formulierung [14] des Komplexes (82) aus Substrat, S-Adenosylmethionin und Magnesium bestätigt [160]. Mit Hilfe dieser Formel (82) sollten sich auch die Befunde über die Position,



an der methyliert wird, erklären lassen. Daß ein im Verhältnis 1:1:1 aus den Komponenten bestehender Komplex vorliegt, zeigten Untersuchungen über den Einfluß von Kationen auf Methylierungen mit dem Enzym [160]. Ein weiterer Hinweis ist die nicht-kompetitive Hemmung der Catechol-O-Methyltransferase durch Tropolon, bei der das Verhältnis von Metall-Ion zu Inhibitor 1:1 beträgt [161].

Infolge der Bedeutung der Catechol-O-Methyltransferase für die Inaktivierung der Catecholamine hat es nicht an Versuchen gefehlt, Hemmstoffe zu finden [162–166], die u. a. die physiologische Lebensdauer des (Nor)Adrenalins verlängern sollten. Pyrogallol ist ein solcher Hemmstoff und ist trotz seiner Giftigkeit und Instabilität eingehend studiert worden. Andere nicht-kompetitive Inhibitoren geringerer Toxizität, besserer Wirksamkeit und größerer Stabilität sind Dihydroxyphenylacetamid [167] und die Tropolone [168]. Auch große Dosen Thyroxin [169] und 3,5-Dijod-4-hydroxybenzoesäure hemmen das Enzym [170].

### 4. Aminoxydasen

Das Enzym Monoaminoxidase (MAO) hängt auf das engste mit dem Stoffwechsel von Catecholaminen zusammen, die unter Bildung der entsprechenden Aldehyde oxydativ desaminiert werden. Endprodukt ist eine

[160] S. Senoh, Y. Tokuyama u. B. Witkop, *J. Amer. chem. Soc.* 84, 1719 (1962).

[161] J. V. Burba, Dissertation, University of Ottawa, Ottawa, Canada.

[162] J. Axelrod u. M. J. Laroche, *Science (Washington)* 130, 800 (1959).

[163] J. Axelrod u. R. Tomchick, *Nature (London)* 184, 2027 (1959).

[164] Z. M. Bacq, L. Gosselin, A. Dresse u. J. Renson, *Science (Washington)* 130, 453 (1959).

[165] S. Udenfriend, C. R. Creveling, M. Ozaki, J. W. Daly u. B. Witkop, *Arch. Biochem. Biophysics* 84, 249 (1959).

[166] D. W. Wylie, S. Archer u. A. Arnold, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 130, 239 (1960).

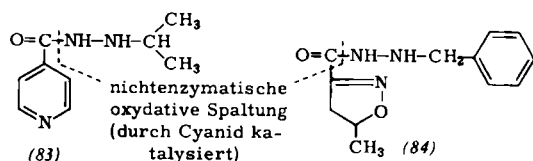
[167] A. Carlsson, M. Lindqvist, S. Fila-Hromadko u. H. Corrodi, *Helv. chim. Acta* 45, 270 (1962).

[168] B. Belleau u. J. Burba, *Biochim. biophysica Acta* 54, 195 (1961).

[169] A. D'lorio u. J. Leduc, *Arch. Biochem. Biophysics* 87, 224 (1960).

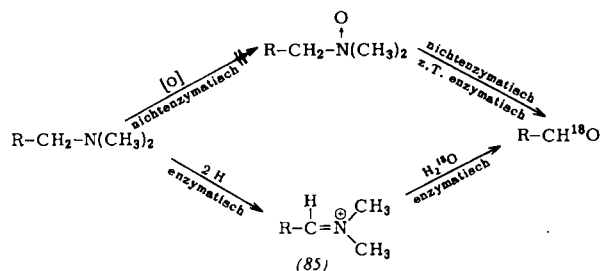
[170] A. D'lorio u. C. Mavrides, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 40, 1454 (1962).

Säure oder ein Alkohol, je nachdem ob eine Aldehyd-Oxydase oder eine Alkohol-Dehydrogenase hinzu kommt. Das Enzym tritt in Mitochondrien auf, ist aber in Lösung gebracht worden [171]. Über einen mit ihm zusammenwirkenden Cofaktor (ein Flavin?) weiß man wenig [172]. Die Hemmung der Monoaminoxidase mit Iproniazid (83) läßt auf zwei enzymatisch aktive Stellen im Molekül schließen [173]. Iproniazid wird zunächst nichtenzymatisch und nichthydrolytisch oxydativ sowohl zu Isopropylhydrazin als auch zu Aceton gespalten.

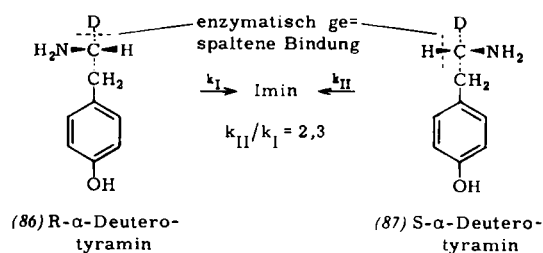


Cyanid-Ionen katalysieren diese Spaltung, der sich eine irreversible Vereinigung von einem Mol des Enzyms mit 2 Mol Hydrazin anschließt. Das Enzym wird dadurch ebenso vollständig gehemmt wie durch die Einwirkung von Isocarboxazid (84) [174]. Die irreversible Hemmung ist nicht einfach auf eine Kombination des Hydrazins mit einer funktionellen Gruppe am aktiven Zentrum des Enzyms zurückzuführen. Pyruvat kann die Hemmung verhindern, aber nicht aufheben [175]. Andere Carboxylreagentien wie Semicarbazid hemmen das Enzym nicht, und die Hemmung mit Hydrazinen tritt nur in Gegenwart von Sauerstoff ein [176]. Bei der durch Kupfer(II)-Ionen katalysierten Autoxydation von Hydrazinen treten wahrscheinlich freie Radikale auf [177]. Diese könnten mit den aktiven Zentren der Monoaminoxidase irreversibel reagieren, nachdem sie zunächst durch andere (nicht kovalente) Kräfte gebunden und festgehalten wurden.

Daß auch tertiäre Amine wie N,N-Dimethyltryptamin durch Monoaminoxidase umgesetzt werden, führte zu der Vermutung, daß N-Oxyde als Zwischenprodukte auftreten könnten [178]. Es ergab sich jedoch, daß der Sauerstoff im entstehenden Aldehyd aus  $H_2^{18}O$ , nicht aus  $^{18}O_2$ , stammt, und daß zwischen N,N-Dimethyltryptamin und seinem N-Oxyd kein Austausch stattfindet. Auch kinetische Studien sprachen gegen ein intermediäres N-Oxyd, obwohl auch das N-Oxyd – besonders bei geringem Sauerstoffdruck – langsam oxydiert wird. Der enzymatische Abbau eines tertiären Amins könnte über ein Zwischenprodukt mit Aldimmonium-Struktur (85) gehen, das als „Decker-Base“ leicht hydrolysiert wird [179].



Untersuchungen mit Isotopen an primären Aminen [180] sprechen dafür, daß intermediär ein Imin entsteht und daß die Spaltung einer zur Aminogruppe  $\alpha$ -ständigen C-H-Bindung dabei geschwindigkeitsbestimmend ist. Mit spezifisch deuteriertem Tyramin, (86) und (87),



das durch enzymatische Decarboxylierung von Tyrosin oder durch asymmetrische Synthese gewonnen worden war, ließ sich zeigen, daß die Stereospezifität der Monoaminoxidase [180] derjenigen der Alkohol-Dehydrogenase entspricht [181]. Bei deuteriertem Tyramin und Tryptamin findet man eine direkte Beziehung zwischen dem Isotopeneffekt bei der Oxydation mit Monoaminoxidase und der Lebensdauer in vivo. Doppelt deuteriertes Noradrenalin besitzt keine längere Lebensdauer, was dafür spricht, daß es zur Hauptsache nicht durch Monoaminoxidase abgebaut wird [182]. Das stimmt mit Beobachtungen über den Einfluß von Monoaminoxidase auf die Wirksamkeit von Phenäthylamin, Tyramin, Noradrenalin und Adrenalin überein [183]. Bei deuteriertem Kynuramin [184] beeinflußt die Spaltung einer  $\alpha$ - (und einer  $\beta$ -) C-H-Bindung die Reaktionsgeschwindigkeit. Im Übergangszustand sollte also die Bindung zwischen den  $\alpha$ - und  $\beta$ -C-Atomen teilweise Doppelbindungscharakter haben. Da Verbindungen vom Typ des Phenylcyclopropylamins eine solche hybridisierte C( $\alpha$ )-C( $\beta$ )-Bindung aufweisen, ist der hemmende Einfluß, den sie auf die Monoaminoxidase haben [185], möglicherweise auf ihre Ähnlichkeit mit dem Übergangszustand bei der enzymatischen Oxydation zurückzuführen. Die weitere Untersuchung der reversiblen Hemmung mit 2-Phenylcyclopropylaminen hat ergeben, daß diese Verbindungen weder mit Harmin

[171] H. Weissbach, B. G. Redfield u. S. Udenfriend, J. biol. Chemistry 229, 953 (1957).

[172] A. N. Davison, Physiol. Rev. 38, 729 (1958).

[173] T. E. Smith, H. Weissbach u. S. Udenfriend, Biochemistry, im Druck.

[174] M. Schwartz, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 135, 1 (1962).

[175] A. Horita u. C. Matsumoto, Life Science 1, 491 (1962).

[176] B. M. Davison, Biochem. J. 67, 316 (1957).

[177] L. E. Ebersson u. K. Persson, J. med. pharmac. Chem. 5, 738 (1962).

[178] T. E. Smith, H. Weissbach u. S. Udenfriend, Biochemistry 1, 137 (1962).

[179] D. Richter, Biochem. J. 31, 2022 (1937).

[180] B. Belleau, M. Fang, J. Burba u. J. Moran, J. Amer. chem. Soc. 82, 5752 (1960).

[181] F. A. Loewus, F. H. Westheimer u. B. Vennesland, J. Amer. chem. Soc. 75, 5018 (1953).

[182] B. Belleau, J. Burba, M. Pindell u. J. Reiffenstein, Science (Washington) 133, 102 (1961).

[183] E. Griesemer, C. Barsky, C. A. Dragstedt, J. A. Wells u. E. A. Zeller, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 84, 699 (1953).

[184] B. Belleau u. J. Moran, J. med. pharmac. Chem. 5, 215 (1962).

[185] S. Sarkar, R. Banerjee, M. S. Ise u. E. A. Zeller, Helv. chim. Acta 43, 439 (1960).

(7-Methoxy-1-methyl-9-pyrid[3.4-b]indol) um die gleiche aktive Stelle am Enzym konkurrieren noch sich mit dieser nichtkompetitiv vereinigen [186], während Harmin und Hydrazine die gleiche Stelle am Enzym besetzen [187]. Die Gruppe der Monoaminoxidase-Inhibitoren [188] besteht aus vielen Verbindungstypen [189].

Die Bestimmung der Monoaminoxidase-Aktivität *in vitro* ist durch die Einführung von Kynuramin als Substrat sehr vereinfacht worden. Die Umwandlung dieses Amins in 4-Hydroxychinolon geht mit einer Abnahme der UV-Absorption bei 360 m $\mu$  einher [190]. Aus Dihydro-norkynuramin entsteht Indigo [191], was sich möglicherweise zum histochemischen Nachweis der Monoaminoxidase ausnutzen läßt, analog der Verwendung eines Tetrazoliumsals als Elektronenacceptor bei der Untersuchung der *in-vivo*-Hemmung der Monoaminoxidase [192]. Ein empfindliches Verfahren zum Monoaminoxidase-Nachweis gestattet die direkte Bestimmung der Monoaminoxidase-Hemmung beim Menschen mit Jejunum-(Leerdarm-)Schleimhaut [193]. Eine Fehlerquelle ist dabei die Möglichkeit, daß das Enzym in anderen Geweben stärker oder schwächer gehemmt wird [194].

Die Monoaminoxidase-Hemmung durch Thiamin [195] ist insofern von Interesse, als Nervenfasern Thiamin oder eine ähnliche Substanz enthalten sollen, deren Transport durch die Nervenmembran in Beziehung zur nervlichen Aktivität zu stehen scheint [196]. Eine Überfunktion der Schilddrüse hat eine Verminderung der Monoaminoxidase und eine Erhöhung der Tryptamin- und Tyramin-Spiegel zur Folge [197].

In Säugetieren kommt – neben anderen Aminoxydasen – mehr als eine Monoaminoxidase [198] vor [199, 200]. Zu den anderen Aminoxydasen gehört eine Diaminoxidase [200, 201], die in Schweinedarm und -nieren auftritt und Histamin, Putrescin und andere Diamine oxydiert. Picolylamine hemmen dieses Enzym [202]. Nach der Hemmung mit Isonicotinylhydrazin läßt sich durch Zusatz von Eisen(III)-cyanid die Aktivität des Enzyms gegenüber Cadaverin, nicht aber gegenüber Histamin, wiederherstellen. Die Hemmung mit Semicarbazid oder Aminoguanidin ist auf diese Weise nicht rückgängig zu

machen [203]. Wahrscheinlich bedarf das Enzym der Mitwirkung von Pyridoxalphosphat als Cofaktor [200].

Im Plasma vieler Tierarten kommen eine Sperminoxydase und eine Benzylaminoxidase vor [201, 204]. Die Sperminoxydase ist kristallin und enthält Kupfer(II)-Ionen sowie Pyridoxalphosphat als prosthetische Gruppen (4 Cu<sup>2+</sup> und 2 Pyridoxalphosphat pro Enzymmolekül). Es ist angenommen worden, daß das Enzym zwei aktive Zentren hat [205, 206]. Rattenleber-Mikrosomen verfügen über ein Enzym, das Amphetamin (1-Phenyl-2-aminopropan) desaminiert [207]. Verschieden von der Diaminoxidase ist Histaminase, die für (1-Methyl-)Histamin spezifisch ist [207a].

## 5. Dopamin- $\beta$ -Oxydase (Noradrenalin-Synthetase)

Das Enzym, das die Bildung von Phenäthanolaminen katalysiert, ist aus den chromaffinen Granula der Nebennieren-Medulla angereichert worden. Es benötigt Ascorbinsäure und Fumarsäure als Cofaktoren [208]. In Anwesenheit von Ascorbinsäure kann auch ein Brenzcatechin die Rolle des reduzierenden Agens übernehmen [209]. Das Enzym ist nicht spezifisch und reagiert mit vielen Substraten, u. a. mit Phenäthylamin [209], Tyramin [210], Epinin [211, 212], 3-Methoxytyramin,  $\alpha$ -Methyltyramin, m-Tyramin,  $\alpha$ -Methyl-dopamin und Meskalin [34, 213, 214]. Daß auch das nicht-phenolische Phenäthylamin hydroxyliert wird, läßt die Annahme eines intermediären Chinons (oder Methins) unnötig erscheinen. Der Hydroxylsauerstoff stammt aus <sup>18</sup>O<sub>2</sub>, nicht aus H<sub>2</sub><sup>18</sup>O [122]. Bei der Untersuchung der Umwandlung von Tyramin in Octopamin tauschte die  $\beta$ -OH-Gruppe des Produktes bei der Reinigung mit dem Lösungsmittel aus, so daß die Ergebnisse keinen endgültigen Schluß zuließen [215]. In  $\beta$ -Stellung zur Aminogruppe doppelt mit Tritium markiertes Dopamin verliert bei der enzymatischen Hydroxylierung zu Noradrenalin nur ein  $\beta$ -H-Atom [8].  $\alpha$ -H-Atome werden nicht abgespalten [216]. Die Oxydation scheint also im direkten und stereospezifischen Angriff des Sauerstoffs an einer  $\beta$ -C-H-Bindung zu bestehen.

[186] C. L. Zinkle, C. Kaiser, D. H. Tedeschi, R. E. Tedeschi u. A. Burger, *J. med. pharmac. Chem.* 5, 1265 (1962).

[187] A. Horita u. W. R. McGrath, *Biochem. Pharmacol.* 3, 206 (1960).

[188] E. A. Zeller, *Ann. New York Acad. Sci.* 80, 551 (1959).

[189] M. Ozaki, H. Weissbach, A. Ozaki, B. Witkop u. S. Udenfriend, *J. med. pharmac. Chem.* 2, 591 (1960).

[190] H. Weissbach, T. E. Smith, J. W. Daly, B. Witkop u. S. Udenfriend, *J. biol. Chemistry* 235, 1160 (1960).

[191] Y. Kanaoka, H. Weissbach, T. E. Smith u. B. Witkop, *J. Amer. chem. Soc.* 83, 732 (1961).

[192] K. K. Mustakallio u. E. Levenon, *Science (Washington)* 134, 344 (1961).

[193] R. J. Levine u. A. Sjoerdsma, *Clin. Pharmacol. Therap.* 5, 22 (1963).

[194] W. R. McGrath u. A. Horita, *Toxicol. appl. Pharmacol.* 4, 178 (1962).

[195] H. Y. Meltzer, *Biochem. Pharmacol.* 7, 277 (1961).

[196] I. H. Heller, L. S. Wolfe u. S. Hesse, *J. Neurochemistry* 9, 443 (1962).

[197] R. J. Levine, J. A. Oates, A. Vendsalu u. A. Sjoerdsma, *J. clin. Endocrinol. Metabolism* 22, 1242 (1962).

[198] W. Hardegg u. E. Heilbronn, *Biochim. biophysica Acta* 51, 553 (1961).

[199] H. Blaschko, *Pharmacol. Rev.* 4, 415 (1952).

[200] H. Blaschko, *Brit. med. Bull.* 9, 146 (1953); A. N. Davison, *Biochem. J.* 64, 546 (1956).

[201] H. Blaschko, *J. Physiology* 145, 384 (1959).

[202] H. Blaschko u. S. Kurzepa, *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy* 19, 544 (1962).

[203] Y. Kobayashi u. T. Okuyama, *Biochem. Pharmacology* 11, 949 (1962).

[204] H. Blaschko u. R. Bonney, *Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B.* 156, 268 (1962).

[205] H. Yamada u. K. T. Yasunobu, *J. biol. Chemistry* 237, 1511 and 3077 (1962).

[206] H. Yamada u. K. T. Yasunobu, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 8, 387 (1962).

[207] J. Axelrod, *J. biol. Chemistry* 214, 753 (1955).

[207a] R. Kappeler-Adler u. H. MacFarlane, *Biochim. biophysica Acta* 67, 542 (1963).

[208] E. Y. Levin, B. Levenberg u. S. Kaufman, *J. biol. Chemistry* 235, 2080 (1960).

[209] E. Y. Levin u. S. Kaufman, *J. biol. Chemistry* 236, 2043 (1961).

[210] J. J. Pisano, C. R. Creveling u. S. Udenfriend, *Biochim. biophysica Acta* 43, 566 (1960).

[211] W. F. Bridgers u. S. Kaufman, *J. biol. Chemistry* 237, 526 (1962).

[212] M. Goldstein u. J. F. Contrera, *Biochem. Pharmacology* 7, 77 (1961).

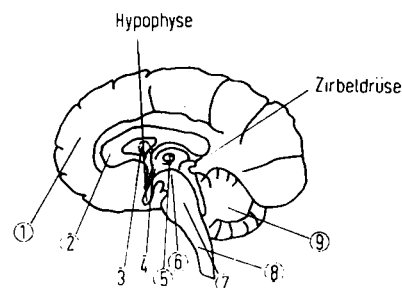
[213] M. Goldstein u. J. F. Contrera, *J. biol. Chemistry* 237, 1898 (1962).

[214] M. Goldstein u. J. F. Contrera, *Experientia* 17, 447 (1961).

[215] C. R. Creveling, *Dissertation*, Georgetown University, Washington, D.C. 1962.

[216] W. J. Smith u. M. Kirshner, *J. biol. Chemistry* 237, 1890 (1962).

Die mangelnde Substratspezifität des Enzyms hat zur Suche nach Inhibitoren geführt, u. a. solchen, die mit Substraten des Enzyms isoster sind [34, 217, 218]. Benzylhydrazine und Benzyloxyamine hemmen kräftig und kompetitiv [34, 217]. Ihre m-Hydroxy-Derivate verhindern die Bildung von Noradrenalin im Gehirn, lassen aber die Dopamin- und Serotonin-Spiegel unverändert [219]. Anaerobe oder aerobe Vorinkubation dieser Inhibitoren mit dem Enzym führt zu nicht-kompetitiver Hemmung, doch läßt sich die Enzymaktivität durch langdauernde Dialyse wiederherstellen [220]. In vivo ließ sich das Enzym nur schlecht hemmen [219, 221], und die Wirkungsdauer der geprüften Substanzen war kurz.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Großhirn	Balken (corpus callosum)	nucleus caudatus (Basal-Ganglion)	Hypothalamus	Thalamus	Mittelhirn	Brücke (Pons)	Medulla	Kleinhirn
Amine [224, 225, 229, 231 - 234, 236, 237]									
Dopamin [a]	Spur	Spur	+++	++	+	+	Spur	Spur	Spur
Noradrenalin	Spur	Spur	+	+++	++	+-	++	++	Spur
Serotonin	Spur	Spur	++	+++	++	++	+	Spur	Spur
Histamin	Spur		Spur	++++	Spur			Spur	Spur
Acetylcholin	++++	++++	++++	+++	+++	++		++++	Spur
γ-Aminobuttersäure [b]	200	50		400		300-500	250	200	200
Enzyme [c] [172, 226-230, 235]									
Decarboxylase (Dopa)	20	30	420	200	130	220	100	70	10
Dopamin-β-Oxydase (Dopamin)	Spur		0,8	1,1					Spur
COMT (Adrenalin)	80	100	100	90		110	1	9	40
MAO (Serotonin)	800	400	900	1600	900	800	900	1100	900
Funktion der Gehirnregion	Bewußtsein, Sprache, Assoziationen, mo- torische und sensorische Relais	Nervenfasern zw. d. Großhirnhälften	Integration motorischer Funktionen	Emotionen	Empfindungen (Schmerz, Lust)	Motorische Funktionen	sensorische und motorische Nerven	sensorische und motorische Nerven	Muskel-Koordination Gleichgewicht

Schema 8. Lokalisation von Enzymen und endogenen Aminen im Gehirn.

[a] Spur = 0 bis 0,15 µg/g Gewebe; + = 0,15 bis 0,30; ++ = 0,30 bis 0,60; +++ = 0,60 bis 1,5; ++++ = 1,5 bis 15.

[b] Mengenangaben in µg/ml.

[c] Die Zahlen bedeuten die Enzymaktivität in µg Substrat pro g Gewebe und Stunde. Die Substrate stehen in runden Klammern.

Adrenalon verhindert in vitro [218] und in vivo [222] die Synthese von Noradrenalin aus Dopamin.

## 6. N-Methylasen und N-Acetylasen

N-Methylierung und N-Acetylierung von Aminen sind seit vielen Jahren bekannt, aber die daran beteiligten Enzyme konnten erst kürzlich angereichert und untersucht werden.

Phenäthanolamin-N-Methyltransferase ist aus der löslichen Fraktion der Nebennieren-Medulla gewonnen worden [223]. Mit S-Adenosylmethionin als Cofaktor

methyliert sie spezifisch Phenäthanolamine, wogegen Phenäthylamine nicht zu den Substraten gehören.

Eine unspezifische N-Methylase aus der löslichen Fraktion der Kaninchenlunge benötigt gleichfalls S-Adenosylmethionin als Cofaktor und methyliert mehrere endogene Amine, u. a. Catecholamine, Serotonin, Tyramin, Tryptamin und Histamin sowie exogene Amine wie Meskalin und Normorphin [91].

Ein aus der löslichen Fraktion von Rattenleber isoliertes Enzym acetyliert Amine [18].

## IV. Verteilung und Lokalisation der Amine und Enzyme

In den vorangehenden Abschnitten ist wiederholt angedeutet worden, in welchen Geweben und Zellen sich die an der Amin-Biosynthese und am Amin-Stoffwechsel beteiligten Enzyme befinden. Das vorläufige und summarische Schema 8 gibt ein Bild von der Verteilung der Amine und Enzyme im Zentralnervensystem [224-237].

[224] A. Carlson, Pharmacol. Rev. 11, 490 (1959).

- [217] C. R. Creveling, J. B. van der Schoot u. S. Udenfriend, Biochem. biophys. Res. Commun. 8, 215 (1962).  
 [218] M. Goldstein u. J. F. Contrera, Experientia 18, 334 (1962).  
 [219] R. Kuntzman, E. Costa, C. R. Creveling, C. W. Hirsch u. B. B. Brodie, Life Science 1, 85 (1962).  
 [220] J. B. van der Schoot, C. R. Creveling, T. Nagatsu u. S. Udenfriend, J. Pharmacol. exp. Therapeut., im Druck.  
 [221] B. Nikodijevic, C. R. Creveling u. S. Udenfriend, J. Pharmacol. exp. Therapeut., im Druck.  
 [222] M. Goldstein, J. M. Musacchio, M. C. Kenin, J. F. Contrera u. M. D. Rice, Biochem. Pharmacology 11, 809 (1962).  
 [223] J. Axelrod, J. biol. Chemistry 237, 1657 (1962).

Die Bildung von Aminen aus 2-<sup>14</sup>C-Tyrosin in Katzenhirnschnitten ist untersucht worden. Der nucleus caudatus, eine normalerweise dopamin-reiche Region, synthetisiert große Mengen dieses Amins, wogegen in anderen Gehirnteilen nur kleine Mengen von Dopamin und Noradrenalin entstehen [238].

Die Verteilung von Aminosäuren, Aminen und Oxydationsprodukten im Kaninchenhirn nach Applikation von 2-<sup>14</sup>C-Dopa zeigt ein charakteristisches Muster. Während der Stoffwechsel im Groß- und im Kleinhirn wie zu erwarten träge ist, verläuft die Decarboxylierung im nucleus caudatus sowie im Zwischenhirn (Hypothalamus und Thalamus) und Mittelhirn rasch. Im nucleus caudatus bleibt der Amin-Spiegel hoch, wogegen im Mittel- und Zwischenhirn die Oxydationsprodukte überwiegen [239]. Ähnlich ist die Bildung von 5-Hydroxyindolessigsäure nach Applikation von 5-Hydroxytryptophan untersucht worden [240].

Außer der Topographie der Amine und Enzyme im Gehirn interessiert die subcelluläre Verteilung von Catecholaminen und Serotonin. Sie wird mit Hilfe der Dichtegradientenzentrifugation, der Radioautographie und elektronenmikroskopisch untersucht. Serotonin, Acetylcholin [241–245] und Noradrenalin [246] treten in Gehirnteilen auf, die Nervenenden entsprechen. Mit Hilfe der Dichtegradientenzentrifugation ist auch die Verteilung von Noradrenalin und anderen Aminen im Herz und in den Nebennieren erforscht worden [246]. Die Radioautographie gestattet es, Noradrenalin in mehreren Geweben zu lokalisieren [246] und Aussagen über die Struktur der Nervenenden zu machen [247, 248].

- [225] T. L. Sourkes, Ann. New. York Acad. Sci. 66, 187 (1957).
- [226] J. Axelrod, W. Albers u. C. D. Clemente, J. Neurochemistry 4, 68 (1959).
- [227] S. Udenfriend u. C. R. Creveling, J. Neurochemistry 4, 350 (1959).
- [228] A. Bertler u. E. Rosengren, Acta physiol. scand. 47, 350 (1959).
- [229] R. Kuntzman, P. A. Shore, D. Bogdanski u. B. B. Brodie, J. Neurochemistry 6, 226 (1961).
- [230] D. F. Bogdanski, H. Weissbach u. S. Udenfriend, J. Neurochemistry 1, 272 (1957).
- [231] A. Bertler, Acta physiol. scand. 51, 97 (1961).
- [232] G. R. Pschoidt u. H. E. Himwich, Biochem. Pharmacology 12, 65 (1963).
- [233] W. D. M. Paton, Ann. Rev. Physiol. 20, 431 (1958).
- [234] J. Crossland, J. Pharmacy Pharmacol. 12, 1 (1960).
- [235] S. Udenfriend u. D. F. Bogdanski, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 116, 7 (1956).
- [236] C. F. Baxter, E. Roberts u. E. Eidelberg, Fed. Proc. 18, 187 (1959).
- [237] K. A. C. Elliott u. H. H. Jasper, Physiol. Rev. 39, 383 (1959).
- [238] D. T. Masioka, H. F. Schoff u. L. Petriello, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 139, 73 (1963).
- [239] A. Pletscher u. K. F. Gey, Experientia 18, 512 (1962).
- [240] B. E. Roos, Life Science 1, 25 (1962).
- [241] R. W. Ryall, Biochem. Pharmacology 11, 1234 (1962).
- [242] I. A. Michaelson u. V. P. Whittaker, Biochem. Pharmacology 11, 505 (1962).
- [243] R. W. Ryall, Nature (London) 196, 680 (1962).
- [244] V. P. Whittaker, Nature (London) 195, 1100 (1962).
- [245] I. A. Michaelson u. V. P. Whittaker, Biochem. Pharmacology 12, 203 (1963).
- [246] L. T. Potter u. J. Axelrod, Nature (London) 194, 581 (1962); D. E. Wolfe, L. T. Potter, K. C. Richardson u. J. Axelrod, Science (Washington) 138, 440 (1962).
- [247] T. Samorajski u. B. H. Marks, J. Histochem. Cytochem. 10, 392 (1962).

Wie die Catecholamine von den Granula der Nebennieren-Medulla ausgeschieden werden, ließ sich elektronenmikroskopisch verfolgen: Offenbar geben die Granula Mengen von jeweils etwa 8 Millionen Molekülen Adrenalin frei [249, 250].

Ein weiteres Mittel zum Studium feinerer Einzelheiten des Aminstoffwechsels ist der spektrofotometrische Nachweis [251–253] der mit Formaldehyd gebildeten Kondensationsprodukte. Er gestattet die histochemische Unterscheidung zwischen primären und sekundären Catecholaminen und Serotonin.

## V. Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln und Aminen

Die Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln und endogenen Aminen und den Enzymen, welche die Amine synthetisieren, inaktivieren und abbauen, sind sehr komplex und in mehreren Zusammenfassungen behandelt worden [254–257].

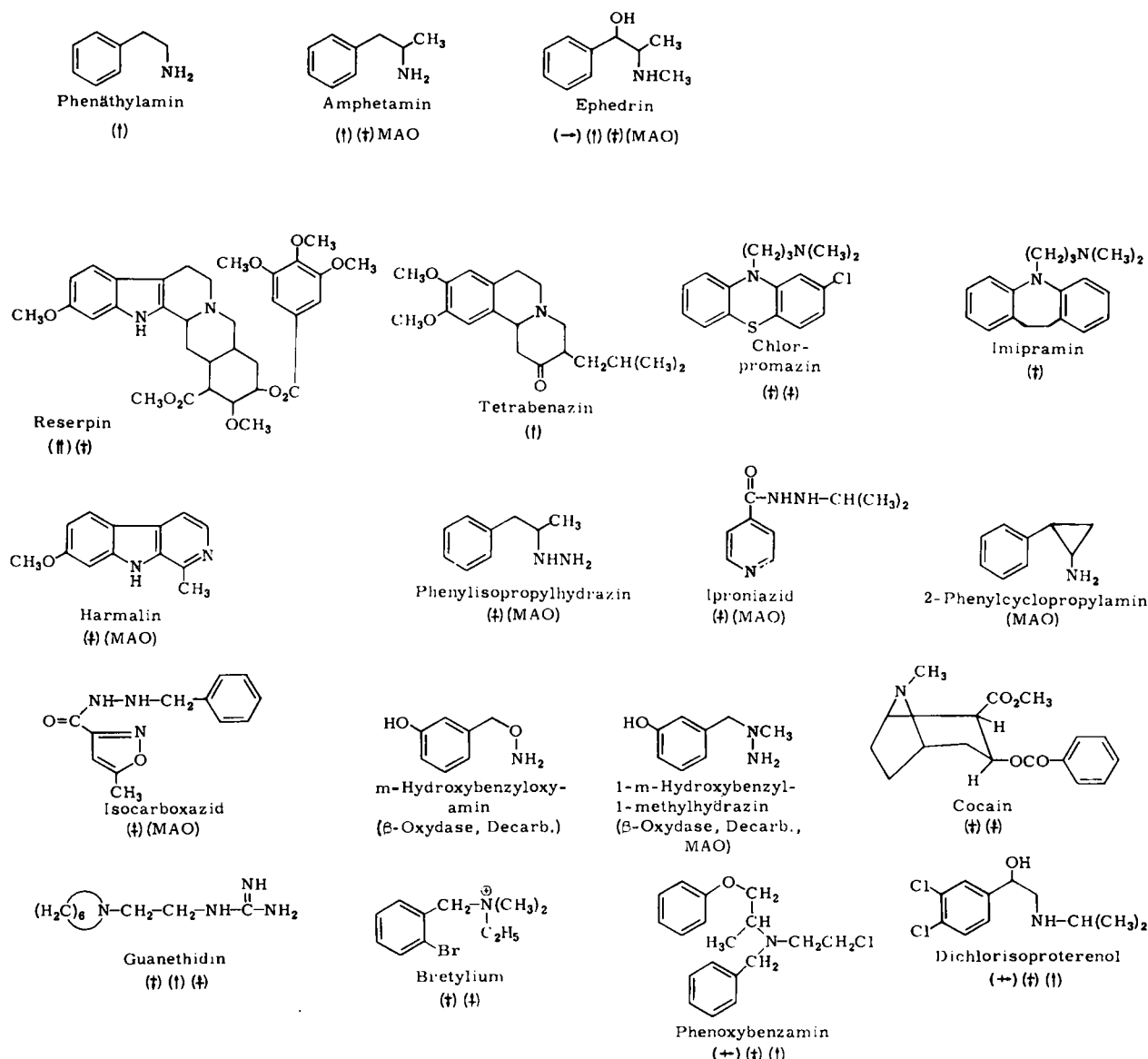
Die Wirkung eines Arzneimittels kann zustandekommen, indem der aktive Transport des Amins oder seiner Vorstufe blockiert oder ein wichtiges Enzym gehemmt wird. Möglich ist weiterhin die Konkurrenz um eine Speicherstelle oder einen Receptor. Die endogenen Stoffe, mit denen ein Arzneimittel konkurriert, haben eine spezielle Affinität zu bestimmten Stellen körpereigener Proteine. Das Arzneimittel wird im allgemeinen mit all diesen Stellen in unterschiedlichem Maße reagieren. Effekte, die man in vitro beobachtet, werden in vivo durch Konkurrenzreaktionen und durch die Fähigkeit des Arzneimittels, seine Angriffsstelle zu erreichen, modifiziert. Alle diese Faktoren müssen bei der Beurteilung der Wechselwirkung zwischen Arzneimitteln und Aminen berücksichtigt werden.

Schema 9 zeigt, wie verschieden Arzneimittel wirken können.

Häufig sind die Effekte nur bei einer einfachen Versuchsanordnung beobachtet worden und traten in anderen oder in zusammengesetzten Systemen nicht auf. Viele Verbindungen sind unvollständig und nur auf einige Wirkungen untersucht worden. Arzneimittel, welche die Freisetzung der Amine stören, tun dies auf unterschiedliche Weise. Beispielsweise scheinen Chlorpromazin und Monoaminoxidase-Hemmer nur eine durch Arzneimittel induzierte Freigabe zu behindern [256, 257], während Blockade oder Stimulierung der Aminabscheidung durch Guanethidin und Bretylium möglicherweise Schlüsse auf die cholinergische Aktivität adrenergischer Nerven gestatten [256, 258].

- [248] B. H. Marks, T. Samorajski u. E. J. Webster, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 138, 376 (1962).
- [249] E. D. P. De Robertis u. D. D. Sabatini, Fed. Proc. 19, 70 (1959).
- [250] W. R. Burack, E. Avery, P. R. Draskoczy u. N. Weiner, Biochem. Pharmacology 9, 85 (1962).
- [251] A. Carlsson, B. Falck u. N.-A. Hillarp, Acta physiol. scand. 54, 385 (1962).
- [252] A. Carlsson, B. Falck u. N.-A. Hillarp, Acta physiol. scand. 56, Suppl. 196 (1962).
- [253] B. Falck, Acta physiol. scand. 56, Suppl. 197 (1962).
- [254] W. S. Peart, Ann. Rev. Pharmacol. 2, 251 (1962).
- [255] B. B. Brodie u. E. Costa in: Monamines et Systeme Nerveux Central. Georg & Cie, S.A., Genf 1962.
- [256] P. A. Shore, Pharmacol. Rev. 14, 531 (1962).
- [257] J. Axelrod in: Proc. Symp. on Clin. Chem. of Monoamines. Elsevier, Amsterdam, im Druck.
- [258] J. H. Burn u. M. J. Rand, Advances Pharmacology 1, 30 (1962).





Schema 9. Verbindungen, die den Aminstoffwechsel, die Aminaufnahme (oder -Speicherung) oder die Aminfreigabe beeinflussen.  
 (†): setzt Amin frei. (‡): blockiert die Aminfreigabe. (‡): blockiert die Aminaufnahme. (→): wirkt sympathomimetisch.  
 (↔): wirkt sympatholytisch.  
 MAO, β-Oxydase, Decarb.: Verbindung hemmt Monoaminoxidase, Dopamin-β-Oxydase oder Decarboxylase.

Die Wirkungen sympathomimetischer Amine, die als „indirekt“, „direkt“ oder „gemischt“ unterschieden worden sind [259], hängen von der Fähigkeit der Amine ab, direkt mit den Rezeptor zu reagieren (Aramin, Neosynephrin) oder gebundenes Noradrenalin freizusetzen (Tyramin, Phenäthylamin, Amphetamin). Bei Aminen mit „gemischter“ Wirkung, z. B. Ephedrin, treten beide Effekte auf [260, 261].

In diesem Zusammenhang verdient das D-(–)-Pseudoephedrin Erwähnung. Es verstärkt die Reaktion des Körpers auf Noradrenalin, blockiert aber den Anstieg des Blutdrucks nach Gabe von D-(–)-Ephedrin [262].

- [259] J. H. Burn u. M. J. Rand, *J. Physiology* 144, 314 (1953).  
 [260] U. Trendelenburg, A. Muskus, W. W. Fleming u. B. Gomez Alonso de la Sierra, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 138, 170 (1962).  
 [261] J. L. Schmidt u. W. W. Fleming, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 139, 230 (1963).  
 [262] J. B. LaPidus, A. Tye, P. Patil u. B. Z. Modi, *J. med. Chemistry* 6, 76 (1963).

Die freisetzende Wirkung des Ephedrins scheint also durch sein Diastereomer aufgehoben zu werden, das allein und unmittelbar ohne Wirkung ist.

Bei der durch Amine wie Tyramin und Phenäthylamin induzierten Freisetzung von Noradrenalin aus den Granula der Nebennieren-Medulla [263] entspricht die Menge des verdrängten Noradrenalins der Menge des verdrängenden Amins. Im Gegensatz dazu hat Aramin eine sehr viel stärkere freisetzende Wirkung, die an die des Reserpins heranreicht [264].

Einige Amine blockieren die Amin-Resorption [256, 265]. Amphetamin und Ephedrin sind außerdem schwache Monoaminoxidase-Inhibitoren [266].

- [263] H. J. Schümann u. A. Philippa, *Int. J. Neuropharmacology* 1, 179 (1962).  
 [264] S. Udenfriend u. P. Zaltzman-Nirenberg, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 338, 194 (1962).  
 [265] S. M. Hess, *Arch. int. Pharmacodynam. Thérap.* 138, 584 (1962).  
 [266] P. J. G. Mann u. J. H. Quastel, *Biochem. J.* 34, 414 (1960).

Reserpin ist das klassische Beispiel einer Substanz, die Catecholamine und Serotonin freisetzt [256], aber in geringer Konzentration hemmt es in den Milznerven des Rindes die Aminfreisetzung einschließlich derjenigen, die durch Tyramin induziert wird [267]. In den Granula der Nebenniere stört Reserpin die Dopamin-Aufnahme, nicht aber dessen anschließende Umwandlung ins Noradrenalin [268]. Untersuchungen am Gehirn ergaben, daß dort unter dem Einfluß von Reserpin kein Dopamin angereichert wird, nicht einmal im nucleus caudatus [269].

Die doppelte Möglichkeit zur Inaktivierung von Noradrenalin durch Monoaminoxidase und durch Catechol-O-Methyltransferase ist am Herzen studiert worden. Intracellulär freigesetztes Noradrenalin wird durch Monoaminoxidase umgesetzt, extracellulär freigegebenes durch Catechol-O-Methyltransferase. Nervöse Stimulation [270], Tyramin [39, 271], Acetylcholin und 1.1-Dimethyl-4-phenylpiperazinium-Salze [272] führen zu extracellulärer Freisetzung des Amins. Unter dem Einfluß von Reserpin werden große Mengen des Amins intracellulär freigegeben und reagieren infolgedessen mit der Monoaminoxidase [271]. Die Behandlung mit einem Monoaminoxidase-Hemmer setzt selbst kein Amin frei, beeinflußt aber die durch Reserpin induzierte Freigabe, denn das Amin muß jetzt aus der Zelle herausdiffundieren und wird dann durch Catechol-O-Methyltransferase inaktiviert. Guanethidin und  $\alpha$ -Methyldopa setzen Noradrenalin bevorzugt intracellulär in Freiheit.  $\alpha$ -Methyldopa hemmt außerdem die Catechol-O-Methyltransferase [272]. Ob die Verhältnisse im Gehirn ähnlich sind, ist unbekannt. In Herzschnitten wird Noradrenalin durch Catechol-O-Methyltransferase, in Gehirnschnitten dagegen durch Monoaminoxidase umgesetzt [269].

Tetabenazin führt im Gehirn wie Reserpin zur Freigabe von Serotonin und Catecholaminen. Seine Wirkungen und die anderer Benzochinolizine sind kürzlich zusammenfassend beschrieben worden [273].

Chlorpromazin blockiert die Aufnahme [274] und behindert die durch Reserpin induzierte Freigabe [275] von Catecholaminen. Außerdem wirkt es dem durch Monoaminoxidase-Inhibitoren verursachten Anstieg des Serotonin-Spiegels im Gehirn entgegen [275, 276].

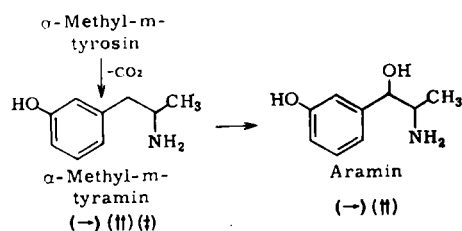
Imipramin oder sein Stoffwechselprodukt Desmethyl-imipramin [277], das die nach Reserpin-Gaben eintre-

tende Dämpfung aufhebt [278], hat ähnliche biochemische Eigenschaften wie das Chlorpromazin und hemmt die Aufnahme von Catecholaminen [274]. Imipramin unterscheidet sich vom Chlorpromazin, indem es den Serotonin-Stoffwechsel steigert (vermutlich durch Beeinflussung der Serotonin-Aufnahme), während Chlorpromazin in dieser Hinsicht wirkungslos ist [105].

Monoaminoxidase-Inhibitoren wie Harmalin, Phenylcyclopropylamine, Phenylisopropylhydrazin und Iproniazid blockieren die Amin-Freigabe und wirken dem freisetzenden Einfluß des Reserpins und Guanethidins entgegen [256, 279].

Auch die Decarboxylase-Hemmer haben unterschiedliche Wirkungsweisen.  $\alpha$ -Methyldopa und  $\alpha$ -Methyl-m-tyrosin sind kräftige Inhibitoren des decarboxylierenden Enzyms und setzen die Serotonin-, Dopamin- und Noradrenalin-Spiegel herab. Während sich die Konzentrationen von Serotonin und Dopamin alsbald normalisieren, bleibt der Noradrenalin-Gehalt eine lange Zeit gering [280–282]. Es gibt zahlreiche Beweise dafür, daß der Hemmstoff in vivo decarboxyliert wird und daß der lang anhaltende Noradrenalin-Mangel auf das bei der Decarboxylierung entstehende  $\alpha$ -Methyl-m-tyramin zurückzuführen ist [264, 283, 284].

Aus  $\alpha$ -Methyldopa können neben  $\alpha$ -Methyldopamin auch O-methylierte und desaminierte Produkte entstehen [285]. Die  $\beta$ -Hydroxylierung des bei der Decarboxylierung von  $\alpha$ -Methyl-m-tyrosin gebildeten Amins [286] führt in vivo zu dem sehr kräftig Amin freisetzenden Aramin [264]. Ob während des lang anhaltenden Noradrenalin-Mangels im Gehirn  $\alpha$ -Methyl-m-tyramin und Aramin auftreten, ist noch ungeklärt.



Carlsson [287] fand nach sieben Tagen hohe Konzentrationen dieser Stoffe, während andere Autoren mit anderen Isolierungsverfahren das rasche Verschwinden der Decarboxylierungsprodukte beobachteten [264, 284].

[267] U. S. von Euler u. F. Lishajko, *Biochem. Pharmacology* 9, 77 (1962).

[268] N. Kirshner, *J. biol. Chemistry* 237, 2311 (1962).

[269] H. J. Dengler, I. A. Michaelson, H. E. Spiegel u. E. Titus, *Int. J. Neuropharmacology* 1, 23 (1962).

[270] G. Hertting u. J. Axelrod, *Nature (London)* 192, 161 (1961).

[271] J. J. Kopin u. E. K. Gordon, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 138, 351 (1962).

[272] J. J. Kopin u. E. K. Gordon, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.*, im Druck.

[273] A. Pletscher, A. Brossi u. K. F. Gey, *Int. Rev. Neurobiol.* 6, 275 (1962).

[274] G. Hertting, J. Axelrod u. R. W. Patrick, *Biochem. Pharmacology* 8, 246 (1961).

[275] K. F. Gey u. A. Pletscher, *Ann. New York Acad. Sci.* 66, 271 (1957).

[276] C. Morpurgo, *Biochem. Pharmacology* 11, 967 (1962).

[277] L. Meduna, L. G. Abood u. J. H. Biel, *J. Neuropsychiat.* 2, 232 (1961).

[278] M. S. Kline, G. Simpson u. B. B. Brodie, *Int. J. Neuropharmacology* 1, 55 (1962).

[279] J. Axelrod, G. Hertting u. R. W. Patrick, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 134, 325 (1961).

[280] S. M. Hess, R. H. Connamacher, M. Ozaki u. S. Udenfriend, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 134, 129 (1961).

[281] C. C. Porter, J. A. Totaro u. C. M. Leiby, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 134, 139 (1961).

[282] E. Costa, G. L. Gessa, R. Kuntzman, C. W. Hirsch u. B. B. Brodie, *Ann. New York Acad. Sci.* 96, 118 (1962).

[283] T. L. Sourkes, G. F. Murphy u. B. Chavez-Lara, *J. med. pharmac. Chem.* 5, 204 (1962).

[284] G. L. Gessa, E. Costa, R. Kuntzman u. B. B. Brodie, *Life Science* 1, 353 (1962).

[285] C. C. Porter u. D. C. Titus, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 139, 77 (1963).

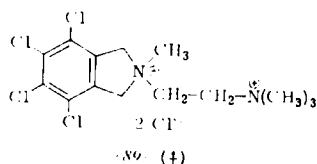
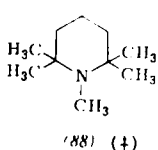
[286] A. Carlsson u. M. Lindqvist, *Acta physiol. scand.* 54, 87 (1962).

[287] A. Carlsson, unveröffentlicht.

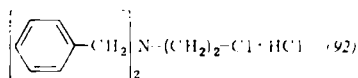
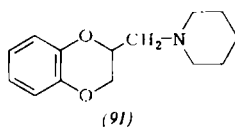
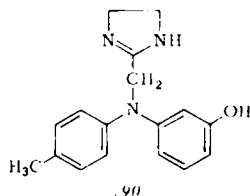
m-Hydroxybenzyl-oxyamine und -hydrazine sind kräftige Inhibitoren für Decarboxylasen [131–133] und  $\beta$ -Oxydasen [24, 217, 219], und die Hydrazine hemmen auch die Monoaminoxidase [152, 153].

Cocain sensibilisiert Nervenpräparate gegen Noradrenalin, indem es dessen Aufnahme beeinflusst [274]. Es wirkt außerdem dem Tyramin entgegen [288], wahrscheinlich indem es dessen Aufnahme behindert und damit auch die Freigabe von Noradrenalin hemmt [289–291].

Guanethidin und Bretylum scheinen die Freigabe von Noradrenalin an Rezeptoren zu stören, und Guanethidin bewirkt darüber hinaus eine langanhaltende Herabsetzung des gespeicherten Noradrenalins [256, 292–294]. Beide Arzneimittel behindern die Noradrenalin-Aufnahme und wirken seiner durch Reserpin induzierten Freisetzung entgegen [295]. Andere Ganglienblocker wie Pempidin (88) und Chlorisondamin (89) hemmen sowohl



die spontane als auch die unter dem Einfluß von Reserpin einsetzende Freigabe von Noradrenalin [296]. Versuche, Speicher- und Rezeptorstellen miteinander in Beziehung zu setzen, ergaben, daß blockierende Stoffe wie Phentolamin (90), Benzodioxan (91) und Dibenamin (92) die Freigabe von Noradrenalin aus Granula fördern [297]. Phenoxybenzamin [274] und Dichlorisoprotenerol [298] hemmen die Noradrenalin-Aufnahme.



[288] U. Trendelenburg, A. Muskus, W. W. Fleming u. B. Gomez Alonso de la Sierra, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 138, 181 (1962).

[289] G. Hertting, J. Axelrod u. R. W. Patrick, Biochem. Pharmacology 8, 246 (1961).

[290] R. Lidmar u. E. Muscholl, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 242, 214 (1961).

[291] M. F. Lockett u. K. E. Eakins, J. Pharmacy Pharmacol. 12, 513 (1960).

[292] R. Kuntzman, E. Costa, G. L. Gessa u. B. B. Brodie, Life Science 1, 65 (1962).

[293] R. Cass u. T. L. B. Spriggs, Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy 17, 442 (1961).

[294] M. D. Day u. M. J. Rand, J. Pharmacy Pharmacol. 14, 541 (1962).

[295] G. Hertting, J. Axelrod u. R. W. Patrick, Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy 18, 161 (1962).

[296] G. Hertting, L. T. Potter u. J. Axelrod, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 136, 289 (1962).

[297] A. D'Iorio u. J. G. Laguë, Canad. J. Biochem. Physiol. 41, 121 (1963).

[298] H. J. Dengler, H. E. Spiegel u. E. O. Titus, Nature (London) 191, 816 (1961).

Catechol-O-Methyltransferase-Inhibitoren, z. B. Pyrogallol, verstärken die Wirkung exogener Catecholamine [166, 299, 300], einschließlich der des Isoprotenerols [301], das in vivo O-methyliert wird [51]. Normalerweise ändert Pyrogallol den Catecholamin-Spiegel in Herz und Gehirn nicht, im Gegensatz zu Monoaminoxidase-Inhibitoren, die einen Anstieg der Catecholamine im Gehirn hervorrufen [302]. Injiziert man Pyrogallol aber intracisternal [\*], so ist eine deutliche Erhöhung des Catecholamin-Gehalts im Gehirn die Folge, was darauf schließen läßt, daß Pyrogallol die Blut-Hirnschranke nicht ohne weiteres überschreiten kann [303]. Mit Catechol-O-Methyltransferase-Inhibitoren, z. B. mit Dihydroxyphenylacetamid [167] oder mit Tropolon-Derivaten [168], läßt sich diese Schwierigkeit vielleicht umgehen. Allerdings hemmt Dihydroxyphenylacetamid die Synthese von Serotonin und Catecholaminen im Gehirn, was möglicherweise auf eine Hemmung hydroxylierender Enzyme zurückzuführen ist [287, 303a].

Viele der hier beschriebenen Arzneimittel beeinflussen auch die Aufnahme, Speicherung und Freigabe von Serotonin [233]. Tyramin, Amphetamin, Guanethidin, Cocain und Chlorpromazin haben auf infundiertes Serotonin nur eine geringe Wirkung, während Tryptamin, Reserpin und Imipramin die Speicherung im Gewebe herabsetzen und den Stoffwechsel verstärken [105], vermutlich indem sie die Freigabe oder Aufnahme erhöhen. Monoaminoxidase-Inhibitoren steigern den Serotonin-Spiegel im Gewebe und verlangsamen den Serotonin-Abbau [105]. Ein ähnlicher Einfluß von Monoaminoxidase-Inhibitoren auf den Tryptamin-Stoffwechsel im Zentralnervensystem hat psychotische Auswirkungen [304]. Der depressive Effekt des Reserpins könnte auf einer Verminderung der Serotonin-Speicherung beruhen, denn die Abnahme des Noradrenalin-Gehaltes nach Gabe von  $\alpha$ -Methylaminosäuren führt nicht zur Dämpfung [305]. Interessanterweise läßt sich eine durch Reserpin induzierte Dämpfung mit Dopa und – weniger wirksam – mit 5-Hydroxytryptophan aufheben [306]. Zwischen der zentral dämpfenden oder stimulierenden Wirkung von Arzneimitteln und dem Gehalt an freiem und gebundenem Serotonin im Gehirn besteht eine Beziehung [307] derart, daß dämpfende Stoffe die Menge freien Serotonins erhöhen, was mit der Beobachtung übereinstimmt, daß Serotonin in vielen

[299] Z. M. Bacq, Arch. int. Physiol. 42, 340 (1936); 44, 15 (1936).

[300] M. Goffart, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 139, 476 (1962).

[301] H. Konzeh, Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 139, 558 (1962).

[302] J. R. Crout, C. R. Creveling u. S. Udenfriend, J. Pharmacol. exp. Therapeut. 132, 269 (1961).

[\*] Intracisternal = in die Gehirnhöhle.

[303] M. Masami, Y. Hiroshi u. I. Reiji, Biochem. Pharmacology 11, 1109 (1962).

[303a] B.-E. Ross, u. B. Werdinius, Life Sciences 2, 92 (1963).

[304] J. A. Oates u. A. Sjoerdsma, Neurology 10, 1076 (1960).

[305] G. L. Gessa, E. Costa, R. Kuntzman u. B. B. Brodie, Life Science 1, 441 (1962).

[306] A. Carlsson, M. Lindqvist u. T. Magnusson, Nature (London) 180, 1200 (1957).

[307] M. J. Giarman u. S. M. Shanberg, Biochem. Pharmacology 9, 93 (1962).

Teilen des Gehirns künstlich erregte Potentiale dämpft [308]. Über Serotonin-Antagonisten gibt es eine neuere Zusammenfassung [309].

## VI. Wechselwirkungen zwischen endogenen Aminen

Antagonismen zwischen Aminen, z. B. zwischen Acetylcholin und (Nor)Adrenalin am Rattenuterus oder zwischen Acetylcholin und Serotonin am Mollusken-Herz [310] sind bekannt. Noradrenalin, Adrenalin und Histamin wirken dem Serotonin entgegen [311], und Serotonin verhält sich zum Noradrenalin entweder antagonistisch oder synergistisch [312, 313]. Tyramin induziert die Freigabe von Catecholaminen, Tryptamin setzt Serotonin frei [105], unter dem Einfluß von Histamin werden Catecholamine sezerniert [314], und Adrenalin [315] sowie Serotonin [316] führen zur Freigabe von Histamin. 2.4.5-Trihydroxyphenethylamin [8], ein Produkt des Dopamin-Stoffwechsels, setzt im Herzen Noradrenalin frei [317]. Zentral hemmende Aminosäuren und Polypeptide, z. B.  $\gamma$ -Aminobuttersäure [237] und die Substanz P [318], müssen in diesem Zusammenhang erwähnt werden, obwohl man sich über die Rolle, die sie im Zentralnervensystem der Wirbeltiere spielen, noch im unklaren ist [319]. Stoffwechselprodukte der  $\gamma$ -Aminobuttersäure sind u. a.  $\gamma$ -Aminobutyrylhistidin [320] und  $\gamma$ -Guanidinobuttersäure [321]. Dopamin hat beim Krebs einen starken Einfluß auf den Streck-Rezeptorneuron [322], was zum biologischen Nachweis von Substanzen wie  $\gamma$ -Aminobuttersäure ausgenutzt worden ist. In Gehirnextrakten gibt es mehrere noch unbekannte Verbindungen mit ähnlicher Aktivität wie z. B.  $\gamma$ -Hydroxybuttersäure [323], und man wird noch zahlreiche Beziehungen aufklären müssen, ehe das komplexe Bild der empfindlichen und ausgewogenen Wechselwirkungen zwischen den endogenen Aminen vollständig ist.

## VII. Endogene Amine bei Gesunden und Kranken

Catecholamine und Serotonin hängen eng mit der Funktion des Gehirns zusammen. Störungen ihres Stoffwechsels sollten daher Anomalien oder pathologische Zustände zur Folge haben. Ein klares Beispiel da-

für ist die Phenylketonurie, die durch das Fehlen des Enzyms Phenylalanin-Hydroxylase verursacht wird [324]. Mehrere Stoffwechselprodukte wie Aminosäuren, Ketosäuren und Amine sammeln sich im Patienten an, aber es ist noch unbekannt, welches von diesen für die geistige Degeneration verantwortlich ist.

Andere Krankheiten des Zentralnervensystems sind die Folgen von Störungen im Aminosäure-Stoffwechsel (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1. Stoffwechselanomalien und Erkrankungen des Zentralnervensystems [324a, b]

Syndrom	Genetischer Defekt	Pathologische Erscheinung
Phenylketonurie	Phenylalanin-Hydroxylase fehlt	Geistesschwäche
Leucinosis	Ketosäure-Decarboxylase für Leucin, Isoleucin und Valin fehlt	Hirn-Degeneration
Kongenitale Pellagra	Störung des Tryptophan-Transports im Leerdarm und in der Niere	Geistesschwäche
Histidinämie	Histidase fehlt	Sprachstörungen
Cystathionurie	Störung im Cystathion-Stoffwechsel	Geistesschwäche

Ein komplizierteres Syndrom ist der Parkinsonismus, eine Krankheit im extrapyramidalen System des Gehirns, das normalerweise durch einen hohen Dopamin-Gehalt gekennzeichnet ist. Unter Parkinsonismus leidende Patienten haben in dieser Hirnregion einen niedrigeren Dopamin-Spiegel [325], scheiden im Urin weniger Dopamin aus [326] und zeigen gelegentlich nach Gabe von Dopa eine Besserung [327]. In anderen Arbeiten wird jedoch über normale Konzentrationen der Dopamin-Stoffwechselprodukte [328] und nur geringe Besserungen mit Dopa [329] berichtet. Die Beziehungen zwischen Parkinsonismus und Dopamin sind in einer kritischen Zusammenfassung erörtert worden [330].

Wesentlich komplizierter, noch im Anfangsstadium und weitgehend hypothetisch ist die biochemische Deutung der Schizophrenie [331, 332]. Es gibt zwei Hinweise, die annehmen lassen, daß Änderungen im Gleichgewicht der pharmakodynamischen Amine im Gehirn an der Ätiologie und dem Zustand der Schizophrenie beteiligt sind: zum einen kann man mit Arzneimitteln, die einen Einfluß auf die Amine im Gehirn haben, geistesranke Patienten behandeln. Zum anderen rufen Psychotomimetica, die strukturell den endogenen Aminen ähneln,

[324] S. Udenfriend, Amer. J. clin. Nutrit. 9, 691 (1961); vgl. F. L. Lyman: Phenylketonuria. Thomas, Springfield, Ill. 1963.

[324a] J. B. Stauburg, D. S. Frederickson u. J. B. Wyngaarden: The Metabolic Basis of Inherited Disease. McGraw-Hill, New York 1960.

[324b] T. L. Sourkes: Biochemistry of Mental Disease. Harper and Rowe, New York 1962.

[325] H. Ehringer u. O. Hornykiewicz, Klin. Wschr. 38, 1236 (1960).

[326] A. Barbeau, G. Jasmin u. Y. Duchastel, Neurology 13, 56 (1963).

[327] A. Barbeau, 7. International Congress of Neurology, Rom Sept. 1961.

[328] P. L. McGeer and C. M. Williams, Neurology 23, 73 (1963).

[329] P. L. McGeer, J. E. Boulding, W. C. Gibson u. R. G. Foulks, J. Amer. med. Assoc. 177, 665 (1961).

[330] O. Hornykiewicz, German Medical Monthly 7, 344 (1962).

[331] J. R. Smythies, Lancet 1958, II, 308; 1960, I, 1287.

[332] S. S. Kety, Science (Washington) 129, 1528, 1590 (1959).

[308] A. Pineda u. R. S. Snider, Neurology 13, 166 (1963).

[309] L. Gyermek, Pharmacol. Rev. 13, 399 (1961).

[310] J. H. Welsh, Fed. Proc. 13, 162 (1954).

[311] D. W. Wolley, Proc. nat. Acad. Sci. USA 46, 923 (1960).

[312] P. Gordon, F. J. Haddy u. M. A. Lipton, Science (Washington) 128, 531 (1958).

[313] P. Gordon, F. Haddy u. M. A. Lipton, Fed. Proc. 18, 397 (1959).

[314] G. M. Roth u. W. F. Kvale, Amer. J. med. Sci. 210, 653 (1945).

[315] O. Eichler u. F. Barfuss, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 140, 156 (1940).

[316] W. Feldberg u. A. N. Smith, Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy 8, 406 (1953).

[317] P. Z. Nirenberg u. S. Udenfriend, unveröffentlicht.

[318] W. Haefely u. A. Hürlimann, Experientia 18, 297 (1962); H. Zuber u. R. Jaques, Angew. Chem. 74, 216 (1962).

[319] Inhibition in the Nervous System and Gamma-Aminobutyric Acid. Pergamon Press, New York 1960.

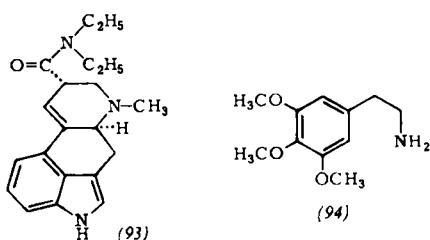
[320] J. J. Pisano, J. D. Wilson, L. Cohen, D. Abraham u. S. Udenfriend, J. biol. Chemistry 236, 499 (1961).

[321] J. J. Pisano, D. Abraham u. S. Udenfriend, Arch. Biochem. Biophysics 100, 323 (1963).

[322] E. G. McGeer, P. L. McGeer u. H. McLennan, J. Neurochemistry 8, 36 (1961).

[323] S. P. Bessman u. W. N. Fishbain, Fed. Proc. 22, 334 (1963).

schizophrene Reaktionen hervor [333]. Hier ist vor allem Lysergsäurediäthylamid (93) zu nennen, das bereits in sehr geringen Mengen wirkt [334], sowie Meskalin (94),



das nur in verhältnismäßig großen Dosen einen Effekt hat, weshalb man nach einem aktiveren Stoffwechselprodukt gesucht hat [159, 335–339 a].

Viele Untersuchungen über die Schizophrenie haben sich auf Unterschiede zwischen schizophrenen Patienten und normalen Kontrollpersonen konzentriert, ein Vorgehen, das mit all den Fehlerquellen belastet ist, die sich aus der medizinischen Vorgeschichte, einer Behandlung mit Arzneimitteln, der Körperverfassung, der Nahrung und aus anderen Einflüssen ergeben. Oft sind Unterschiede in der Zusammensetzung des Urins eher ungeeigneten Kontrollen als biochemischen Besonderheiten der Schizophrenie zuzuschreiben. Kürzlich sind Bufotenin [340], 3,4-Dimethoxyphenäthylamin [341] und N-Methylmetanephrin [52] als Stoffwechselprodukte im Urin schizophrener Patienten wahrscheinlich gemacht worden. Bei normalen Menschen verursacht die Applikation von Tryptophan in Verbindung mit einer Hemmung der Monoaminoxidase Psychosen [304]. Bei schizophrenen Patienten hatten Gaben von Tryptophan (Vorstufe des Serotonins) und Methionin (Methyl donor für Catechol-O-Methyltransferase) bei gleichzeitiger Monoaminoxidase-Hemmung in einigen Fällen eine Verschärfung der Krankheitserscheinungen zur Folge [342].

### VIII. Epilog: Biochemie des Geistes und Beeinflussung des Bewußtseins

Die Konfrontation der Biochemie mit den Geisteskrankheiten hat zu Erfolgen geführt. Wenn es auch nicht immer gelang, die Ursachen der Erkrankungen zu klären, so erhielt man doch in vielen Fällen Hinweise

für eine sinnvolle Therapie. Wer enttäuscht ist, daß sich die ungenau definierte [343] Schizophrenie noch nicht in genauen biochemischen Kategorien beschreiben läßt [332], der sollte sich der Worte erinnern, die J. L. W. Thudichum, der Vater der modernen Hirnchemie, 1897 schrieb [344]: „Meine ärztliche Seele hängt, in Dichtworten ausgedrückt, mit herber Liebeslust an der Unfehlbarkeit der chemischen Methode. Sie war mir ein spiritus rector in dem bewegten Meer der ärztlichen Konjektur, auf welchem man so häufig jedes Kompasses entbehrt. In Gemeinschaft mit der Entwicklung der Ätiologie und Diagnostik hat die chemische Methode der Erforschung und Behandlung der Krankheit in mir die Überzeugung genährt, daß die Heilkunst, abgesehen von ihrer Ausübung durch das Genie und seiner Herrschaft über die menschlichen Gemüter, einer Ausbildung zu einer vollkommenen Wissenschaft und einer Anwendung zu einer fast astronomischen Genauigkeit fähig ist. Dazu müssen aber, wie in der Theologie die Fälschungen der Urkunden, so in der Medizin, um mich eines Ausdrucks von Darwin zu bedienen, die „falschen Tatsachen“ ausgereutet und die wissenschaftlichen Bestände für die Einsicht aller Intelligenzen festgestellt werden.“ Thudichums Prophezeiung [344]: „Der Zusammenhang von Störungen des Hirns mit anomalen chemischen Vorgängen des Körpers läßt sich zunächst nur durch die feinste chemische Diagnose nachweisen, ehe die Krankheit sich durch massive Resultate manifestiert“ hat sich in vielen Fällen erfüllt, beispielsweise bei der Phenylketonurie.

Psychopharmakologie und Psychotherapie sind zu gängigen Begriffen geworden und bezeichnen wissenschaftliche Fächer [345]. Die Biochemie und Erforschung des Geistes [345] rühren an Probleme, die sich nur durch das Zusammenwirken vieler wissenschaftlicher Disziplinen lösen lassen. Die „Beeinflussung des Bewußtseins“ („control of the mind“ [346]) hat einen Klang drohender Aktualität. Einigen erscheint sie als ein Ziel, das mit psychotropen Drogen zu erreichen ist. Andere halten Erfahrung und Bildung für stärker als irgendein Pharmakon (wie etwa Aldous Huxley's „Soma“ in „Brave New World“). „Wenn wir es je dazu kommen lassen, daß eine Droge benutzt wird, um das Denken vieler Menschen zu beeinflussen, so ist die Kontrolle über unser Bewußtsein bereits erreicht. Die Droge selbst braucht dann nur noch ein Placebo zu sein“ [\*] [347].

Die Autoren sind den Herren Dr. J. Axelrod und I. J. Kopin für kritische Durchsicht des Manuskriptes sehr zu Dank verpflichtet.

Eingegangen am 16. April 1963 [A 304]  
Übersetzt von Dr. H. Grünewald, Heidelberg

- [333] D. F. Downing, Quart. Rev. 16, 133 (1962).
- [334] W. A. Stoll, Schweiz. Arch. Neurol. Neurochir. Psychiat. 60, 279 (1947).
- [335] J. Harley-Mason, A. H. Laird u. J. R. Smythies, Confinia Neurol. 18, 152 (1958).
- [336] L. C. Mokrasch u. I. Stevenson, J. Nervous Mental Disease 129, 177 (1959).
- [337] J. Ratcliffe u. P. Smith, Chem. and Ind. 1959, 925.
- [338] M. Goldstein, A. J. Friedhoff, S. Pomerantz, C. Simmons u. J. F. Contrera, J. Neurochemistry 6, 253 (1961).
- [339] A. J. Friedhoff u. M. Goldstein, Ann. New York Acad. Sci. 96, 5 (1962).
- [339a] N. H. Neff u. G. V. Rossi, Fed. Proc. 22, 335 (1963).
- [340] E. Fischer, F. A. Vázquez, T. A. Fernández u. L. Liskowski, Lancet 1961, I, 890.
- [341] A. J. Friedhoff u. E. Van Winkle, J. Nervous Mental Disease 135, 550 (1962).
- [342] W. Pollin, P. V. Cardon jr. u. S. S. Kety, Science (Washington) 133, 104 (1961).

- [343] H. Brill, Ann. New York Acad. Sci. 96, 487 (1962).
- [344] J. L. W. Thudichum: Die Chemische Konstitution des Gehirns. F. Pietzcker, Tübingen 1901, S. V–VI.
- [345] Vgl. Ann. New York Acad. Sci. 66, 417–840 (1957).
- [346] S. M. Farber u. R. H. L. Wilson: Man and Civilization: Control of the Mind, McGraw-Hill, New York 1961.
- [347] S. Kety, [346] S. 91.
- [\*] "If we ever permit a state of affairs to develop in which a drug can be fed to large populations for the purpose of controlling their minds, I submit that control of the mind will already have been achieved, and the drug itself need be no more than a placebo."