

115. Hemmung der Cholin-esterase durch Pyrazolone,
zugleich ein Beitrag zur Differenzierung der Cholin-esterasen
verschiedener Herkunft^{1).}

2. Mitteilung über die Beeinflussung von Fermentreaktionen
durch Chemotherapeutica und Pharmaca²⁾

von E. Albert Zeller.

(2. VII. 42.)

Die p-Aminobenzolsulfonsäure-amide, im folgenden einfach als Sulfonamide bezeichnet, hemmen, wie in der vorangehenden Mitteilung gezeigt wurde, die Cholin-esterase (ChE). Die Grösse der inhibitorischen Wirkung wird von der Konstitution der Sulfonamide und von der Herkunft der verschiedenen Cholin-esterasen sehr stark beeinflusst (organ- und artspezifisches Verhalten).

In der vorliegenden Arbeit ist das Ergebnis analoger Untersuchungen mit einer weitern Gruppe von Chemotherapeutica, den Pyrazolonen (Antipyrin, Pyramidon, Isopropyl-antipyrin usw.) niedergelegt worden. Diese Stoffe hemmen die ChE in noch stärkerem Ausmasse als die Sulfonamide. Auch bei den Pyrazolonen wurde der Einfluss der Konstitution und der Herkunft des Enzyms von verschiedenen Organen und Tierarten studiert und ein ähnliches Verhalten wie bei den Sulfonamiden gefunden.

Als die ChE verschiedener Organe auf ihr Verhalten gegenüber Pyrazolonen geprüft wurde, fand sich eine um das Mehrfache geringere Empfindlichkeit der Hirn-ChE. Diese nimmt somit eine ausgeprägte Sonderstellung ein, die möglicherweise mit deren Teilnahme an einer zentralen Funktion des Gehirns, der Übertragung nervöser Reize durch Acetyl-cholin, in Zusammenhang steht. Es eröffnete sich hier eine Möglichkeit, einen Einblick in den Mechanismus der Einwirkung physiologisch und pharmakologisch aktiver Stoffe auf das Zentralnervensystem zu gewinnen. Dieses besondere ferment-chemische Verhalten der Hirn-ChE wurde deshalb eingehend untersucht.

Methodik.

Es wurde die gleiche Methodik, wie sie in den vorangegangenen Publikationen beschrieben wurde, verwendet, nämlich die von R. Ammon stammende manometrische Bestimmung der ChE³⁾^{4).}

¹⁾ Vorläufige Mitteilung: E. A. Zeller, Verh. Schweiz. Physiol. **20**, 51 (1942).

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

³⁾ R. Ammon, Arch. ges. Physiol. **233**, 486 (1933).

⁴⁾ H. Birkhäuser, Helv. **23**, 1071 (1940).

Im allgemeinen wurden $0,5 \text{ cm}^3$ Fermentlösung auf 2 cm^3 ergänzt. Konzentrationsangaben beziehen sich stets auf die definitive, also nicht auf die in das Reaktionsgefäß hineinpipettierte Substrat- oder Inhibitorenlösung. In den Tabellen und Kurven, in denen die Versuchsergebnisse dargestellt wurden, geben die Zahlen die in Freiheit gesetzten Kubikmillimeter Kohlendioxyd an, die, solange es sich um eine Reaktion nullter Ordnung handelt, unter den gegebenen Reaktionsbedingungen ein gutes und zuverlässiges Mass für die Reaktionsgeschwindigkeiten sind¹⁾²⁾.

Um die Reversibilität der betreffenden ChE-Hemmungen zu untersuchen, wurde die Fermentlösung (Serum) mit dem in *Ringer*-30 gelösten Inhibitor verdünnt, dann ein Teil gegen die gleiche Inhibitorenlösung dialysiert, ein anderer gegen *Ringer*-30 allein. Die aus-dialysierten Fermentlösungen wurden in gleicher Weise wie gewöhnliche Fermentlösungen mit Acetyl-cholin auf ihre ChE-Aktivität geprüft.

Ergebnisse.

1. Hemmung der Cholin-esterase durch Isopropyl-antipyrin.

In dem in Fig. 1 dargestellten Versuch wurden der Fermentlösung (Menschen serum) verschiedene Mengen von Isopropyl-antipyrin zugesetzt. Es zeigte sich schon eine deutliche Hemmung des enzymatischen Acetyl-cholin-Abbaues bei einer 0,00012-molaren Lösung von Isopropyl-antipyrin, die umso stärker ausfiel, je grösser die Inhibitorenkonzentration gewählt wurde. Zwischen der Isopropyl-antipyrin-Konzentration und der Reaktionsgeschwindigkeit besteht eine einfache Gesetzmässigkeit, die sich innerhalb eines weiten Bereichs durch die Formel

$$y = ax^{-b}$$

ausdrücken lässt, wobei y die Reaktionsgeschwindigkeit, x die Konzentration des Inhibitors, a und b Konstanten bedeuten. Diese Beziehung wird in einer anschliessenden Arbeit ausführlich behandelt.

Aus der Figur geht hervor, dass in den ersten 40 Minuten die Reaktion von nullter Ordnung ist. Die kleinen Abweichungen der Zehnminuten-Werte sind durch die Subtraktion der Leerwerte (Ansätze ohne Substrat) bedingt; denn ohne diese würden die Werte viel besser einem geradlinigen Reaktionsverlauf entsprochen, ein Hinweis mehr für die Tatsache, dass Leerwerte nicht immer einfach subtrahiert werden dürfen (vgl. vorangehende Mitteilung und ³⁾).

¹⁾ E. A. Zeller, H. Birkhäuser, H. v. Wattenwyl, R. Wenner, Helv. **24**, 962 (1941).

²⁾ H. Langemann, Helv. **25**, 464 (1942).

³⁾ E. A. Zeller, Helv. **22**, 1381 (1939).

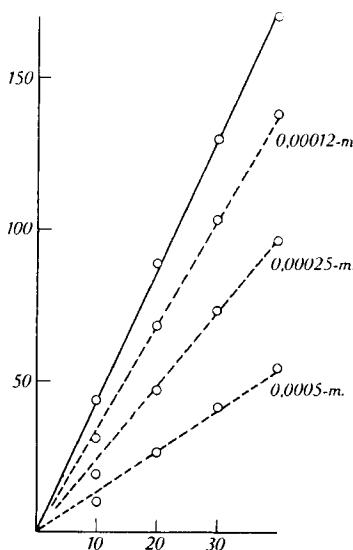


Fig. 1.

Versuchs-Nr. G 215.

Hemmung der Serum-Cholin-esterase durch Isopropyl-antipyrin.
Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm^3 Kohlendioxyd, $0,5 \text{ cm}^3$ verdünntes Menschen-serum (1 : 6), Acetyl-cholin 0,011-m., Isopropyl-antipyrin 0,000125-m., 0,00025-m. und 0,0005-m. Leerwerte und Eigenhydrolyse subtrahiert. Die ausgezogene Kurve entspricht dem Ansatz ohne, die gestrichelten Kurven den Ansätzen mit Isopropyl-antipyrin. Die Konzentrationen des Inhibitors sind den Kurven beigefügt.

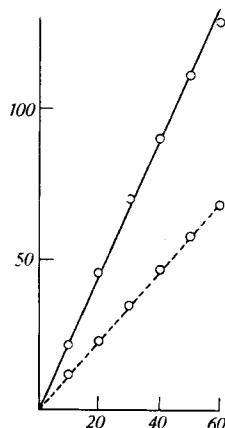


Fig. 2.

Versuchs-Nr. G 316.

Reversibilität der Isopropyl-antipyrin-Hemmung der Serum-ChE.
Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm^3 Kohlendioxyd, $0,5 \text{ cm}^3$ Menschen-serum (1 : 6 verdünnt), Acetylcholin 0,0066-m., Isopropyl-antipyrin 0,00125-m. Leerwerte und Eigen-hydrolyse des Acetyl-cholins subtrahiert. Ausgezogene Kurve: Serum gegen Ringer dialysiert, gestrichelte Kurve: Serum gegen Isopropyl-antipyrin-Ringer dialysiert.

2. Reversibilität der Pyrazolon- und Sulfonamidhemmung.

Um die Reversibilität der Isopropyl-antipyrinhemmung nachzuweisen, wurde in der beschriebenen Weise (vgl. Methodik) das mit dem Inhibitor versetzte Serum einsteils gegen reine *Ringer*-30, andernteils gegen die gleiche Inhibitorlösung dialysiert. Nach 6 Stunden Dialyse war im ersten Fall die Konzentration des Isopropyl-antipyrins so weit herabgesetzt worden, dass, wie die Fig. 2 zeigt, die normale ChE-Aktivität des Serums wieder hergestellt war, während im zweiten die entsprechende Pyrazolon-Hemmung festzustellen war.

In Ergänzung zu der vorangehenden Publikation wurde auch die Hemmung der ChE durch ein Sulfonamid auf ihre Reversibilität hin untersucht. Es wurde Irgamid (N-Dimethylacryloyl-p-aminobenzolsulfonsäure-amid) herangezogen und der Versuch in gleicher Weise wie beim Pyrazolonderivat durchgeführt (Tabelle 1).

Tabelle 1.
Versuchs-Nr. G 325.

Reversibilität der Irgamidhemmung der Serum-Cholin-esterase.
0,5 cm³ Menschen serum (1:6 verdünnt). Acetyl-cholin 0,0066-m., Irgamid 0,0025-m., teilweise vor, teilweise nach der Dialyse zugesetzt. In der Tabelle ist die nach 30 Minuten in Freiheit gesetzte Menge Kohlendioxyd angegeben.

Ansatz	ohne ACh mm ³	mit ACh mm ³	Hem- mung
ohne Irgamid, Dialyse gegen <i>Ringer</i>	4	182	
Zusatz von Irgamid nach der Dialyse	1	131	28%
Zusatz von Irgamid vor der Dialyse, Dialyse gegen <i>Ringer</i>	1	191	- 5%
Zusatz von Irgamid vor der Dialyse, Dialyse gegen Irgamid- <i>Ringer</i>	4	133	30%

Bei dem in Tabelle 1 dargestellten Versuch ist zum Vergleich Serum einfach gegen *Ringer*-30 dialysiert und mit und ohne Irgamid auf seine Aktivität geprüft worden, wobei sich eine Hemmung von 28% durch das Irgamid ergab. Wurde das Serum mit der Irgamidlösung verdünnt und dann gegen *Ringer* dialysiert, dann fand sich praktisch die gleiche Reaktionsgeschwindigkeit, wie wenn überhaupt kein Irgamid zugefügt worden wäre. Dialyse gegen Irgamid-*Ringer* führte fast zu der gleichen Hemmung, wie wenn Irgamid erst unmittelbar vor der Aktivitätsbestimmung zugesetzt worden wäre (30%). Wie aus den Figuren der ersten und der vorliegenden Mitteilung dieser Publikationsreihe hervorgeht, tritt die Sulfamid- und die Pyrazolonhemmung augenblicklich ein; denn es wird der Inhibitor erst im Zeitpunkt 0, also gleichzeitig mit dem Acetyl-cholin, mit der Fermentlösung vereinigt, d. h. das Gleichgewicht zwischen den In-

hibitoren und dem Fermentprotein stellt sich praktisch augenblicklich ein. Es kann deshalb nicht der Einwand erhoben werden, dass die Hemmungsstoffe nicht lange genug auf die ChE einwirken konnten.

3. Konstitution und Pyrazolonhemmung.

Wenn verschiedene Pyrazolone wie Antipyrin (1-Phenyl-2,3-dimethyl-pyrazolon), Amino- und Dimethylamino-antipyrin dem System Acetyl-cholin-ChE in gleicher molarer Konzentration zugesetzt werden, so fällt die Hemmung sehr verschieden aus, wie aus der Tabelle 2 hervorgeht, in der ein Versuch ausführlicher als sonst zur Darstellung gelangte, um die Grösse der Leerwerte zu zeigen.

Tabelle 2.
Versuchs-Nr. G 207.

Hemmung der Serum-ChE durch verschiedene Pyrazolonderivate.
0,5 cm³ Menschen serum (1 : 6 verdünnt), Acetyl-cholin 0,0066-m., Pyrazolone 0,0030-m..
Eigenhydrolyse von 1 mm³ Kohlendioxyd subtrahiert.

Minuten			Amino-antipyrin		Dimethyl-amino-antipyrin		Antipyrin		Isopropyl-antipyrin	
	ohne ACh	mit ACh	ohne ACh	mit ACh	ohne ACh	mit ACh	ohne ACh	mit ACh	ohne ACh	mit ACh
10	-2	38	-1	24	3	24	-1	20	0	7
20	3	78	2	51	1	45	3	39	2	14
30	0	100	1	71	1	63	1	50	0	20
40	-2	113	-2	85	2	79	-1	58	-1	26
50	3	120	1	100	2	92	2	72	0	32
60	2	125	3	110	1	100	3	81	1	37

Alle Pyrazolone hemmen die ChE, am stärksten das Isopropyl-antipyrin, am schwächsten Amino- und Dimethylamino-antipyrin, die beide fast genau gleich wirken und deutlich von dem Antipyrin übertroffen werden. Das gleiche Bild erhalten wir von einem ähnlichen Versuch, der in Fig. 3 (S. 1104) wiedergegeben worden ist.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind deshalb bemerkenswert, weil die Zunahme der Basizität der Inhibitormolekel bei der Substitution eines Wasserstoffatoms durch eine Aminogruppe oder eine Dimethylaminogruppe die Affinität zur ChE herabsetzt, während der Ersatz der Dimethylaminogruppe durch die isostere Isopropylgruppe diese ausserordentlich erhöht.

4. Unterschiede der Pyrazolonhemmung der Serum-Cholinesterase von Mensch und Meerschweinchen.

In der vorangegangenen Mitteilung konnte ich zeigen, dass die Menschen serum-ChE stärker durch Sulfonamide und Diamine als

die Meerschweinchenserum-ChE gehemmt wird. Die gleiche Erscheinung fand sich auch bei den Pyrazolonen (Tabelle 3).

Tabelle 3.
Versuchs-Nr. G 229/230.

Hemmung der Serum-ChE von Meerschweinchen und Mensch.
0,5 cm³ verdünntes Serum (1 : 6), Acetyl-cholin 0,011-m., Leerwerte und Eigenhydrolyse subtrahiert.

Serum	Zeit	unge- hemmte ChE ACh	gehemmte ChE		ACh	Hemmung
			0,00025-m. Iso-A. ACh	Hemmung		
Meer- schweinchen	10	20	16	20%	9	55%
	20	42	37	12%	20	52%
	30	63	52	17%	27	57%
	40	87	79	11%	40	54%
	50	106	92	13%	49	54%
	60	128	114	11%	61	52%
Mensch	10	55	36	35%	12	78%
	20	119	85	29%	30	75%
	30	177	126	29%	48	73%
	40	222	165	26%	64	71%
	50	264	200	24%	78	70%
	60	302	232	23%	93	69%

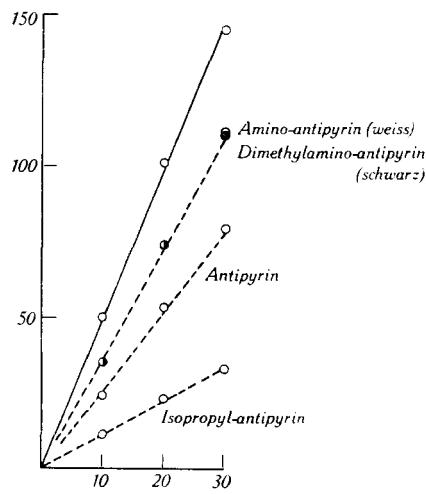


Fig. 3.
Versuchs-Nr. G 197.

Hemmung der Serum-ChE durch Pyrazolonderivate.
Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm³ Kohlendioxyd, 0,5 cm³ Menschen-serum (1 : 6 verdünnt), Acetyl-cholin 0,0066-m., Pyrazolone 0,003-m., Leerwerte und Eigenhydrolyse subtrahiert. Ausgezogene Kurve: Ansatz ohne Inhibitor, gestrichelte Kurve: Ansätze mit Inhibitor.

Die in Prozenten ausgedrückte Hemmung durch die kleinere Isopropyl-antipyrrinkonzentration schwankt beim Meerschweinchen zwischen 11—23 %, beim Menschen zwischen 23—35 %. Bei der höhern Inhibitorkonzentration sind die entsprechenden Werte beim Meerschweinchen 52—57 % bzw. beim Menschen 69—78 %. In einem ähnlichen Versuch mit der gleichen Acetyl-cholinkonzentration und einer 0,00125-molaren Isopropyl-antipyrrinlösung ergab sich nach 30 Minuten Versuchsdauer eine Hemmung von 39 % beim Meerschweinchen gegenüber einer von 61 % beim Menschen (Versuchsnummer G 227/228). Es gilt somit für alle drei Gruppen von ChE-Inhibitoren: Diamine, Sulfonamide und Pyrazolone, dass sie die Serum-ChE des Meerschweinchens weniger stark als die des Menschen hemmen.

Um dem Einwand zu begegnen, es könnte der Hemmungsunterschied durch die nicht ganz übereinstimmende Fermentaktivität der beiden Sera bedingt sein, wurde der Einfluss der Fermentkonzentration auf die Pyrazolonhemmung untersucht. Die Ansätze des Versuchs von Tabelle 4 wiesen die gleiche Acetyl-cholin- und Isopropyl-antipyrrinkonzentration auf und unterschieden sich nur durch die zugesetzte Menge von Serum.

Tabelle 4.

Versuchs-Nr. G 309/10.

Pyrazolonhemmung und Fermentkonzentration.

0,1—0,8 cm³ Menschenserum (1 : 6 verdünnt), Acetyl-cholin 0,066-m., Isopropyl-antipyrrin 0,00075-m. Leerwerte und Eigenhydrolyse subtrahiert. Angabe der nach 30 Minuten gebildeten Kubikmillimeter Kohlendioxyd.

Serummenge cm ³	ohne Iso-A.		mit Iso-A. mm ³	Hemmung
	mm ³	mm ³		
0,1	34		12	65%
0,2	66		27	59%
0,4	121		52	57%
0,8	199		98	51%

Aus der voranstehenden Tabelle 4 geht hervor: Bei zunehmender Serumkonzentration nimmt die Hemmung erwartungsweise ab, aber trotz der achtfachen Serummenge und der übrigen Bestandteile des Serums recht wenig. Substrat und Inhibitor müssen deshalb in grossem Überschuss vorhanden sein, und nur ein kleiner Teil dieser Stoffe kann vom Ferment und den übrigen im Serum vorhandenen Körpern gebunden sein.

5. Pyrazolonhemmung der Hirn-Cholin-esterase.

In der ersten Mitteilung wurde gezeigt, dass die Sulfonamidhemmung der ChE nicht nur von der Herkunft des Enzyms von ver-

schiedenen Tierarten abhängig ist, sondern auch von der aus verschiedenen Organen der gleichen Spezies. Das gilt, wie die nachstehende Fig. 4 zeigt, ganz besonders für die Pyrazolon-Hemmung der Serum- und Hirn-ChE.

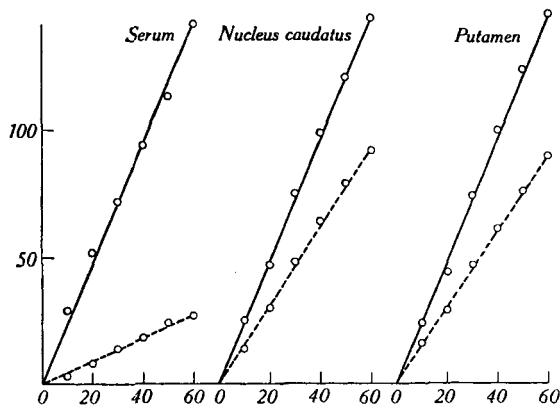


Fig. 4.

Versuchs-Nr. G 296.

Pyrazolonhemmung von Hirn- und Serum-Cholin-esterasen.

Abszisse: Zeit (Minuten), Ordinate: mm³ Kohlendioxyd. Serum und Gehirn vom gleichen Individuum (Sektionsnummer 273/42). Serum 1: 8 verdünnt, Putamen mit der zehnfachen, Nucleus caudatus mit der siebenfachen Menge Ringer-30 extrahiert, beide Enzymlösungen anschliessend 2,7-fach verdünnt. ACh 0,0066-m., Isopropyl-antipyrin 0,006-m. Leerwerte und Eigenhydrolyse subtrahiert. Die ausgezogenen Kurven entsprechen den Ansätzen ohne, die gestrichelten denjenigen mit Isopropyl-antipyrin.

In diesen Versuchen wurde zuerst die Aktivität der Fermentlösungen bestimmt und durch entsprechende Verdünnung die ChE aller drei Ansätze praktisch gleich gemacht. Die Hemmung der beiden Hirn-ChE ist fast genau die Hälfte derjenigen des Serums.

Tabelle 5.

Versuchs-Nr. G 316.

Hemmung der Rattenhirn-ChE durch Isopropyl-antipyrin.

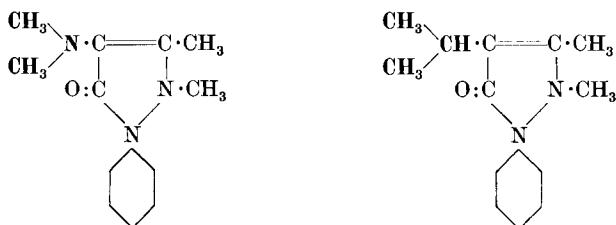
Rattenhirn mit der zehnfachen Menge Ringer-30 extrahiert und 0,5 cm³ dieses Extraktes pro Ansatz verwendet. ACh 0,066-m., Isopropyl-antipyrin 0,003-m. Prozentuale Hemmung nach Subtraktion der Leerwerte und der Eigenhydrolyse berechnet.

Zeit Minuten	ohne Iso-A.		mit Iso-A.		Hemmung
	-	+	-	+	
20	1	33	0	30	3%
40	3	62	1	56	10%
60	1	89	-1	78	12%

Diese und teilweise noch grössere Unterschiede zwischen Hirn- und Serum-ChE finden sich bei Hemmungsversuchen mit einer Reihe anderer ChE-Inhibitoren und sollen in einer nachfolgenden Arbeit gesondert behandelt werden. Ähnlich wie Menschen- scheint sich auch die Rattenhirn-ChE zu verhalten. Eine 0,003-m. Isopropyl-antipyrinlösung, die Menschenserum zu fast 80 % hemmt (vgl. Fig. 3), hat auf Rattenhirn nur einen sehr geringfügigen Einfluss (Tabelle 5).

Diskussion der Ergebnisse.

Damit Acetyl-cholin oder ein anderes Substrat der ChE von der ChE enzymatisch angegriffen werden kann, muss vorher nach allgemeiner Annahme¹⁾ ²⁾ ³⁾ eine Bindung zwischen der substituierten Ammoniumgruppe und der entsprechenden Haftstelle des Enzyms eintreten. Die Ammoniumgruppe ist demnach für die Bildung des Ferment-Substratkplexes von ausschlaggebender Bedeutung. Es war deshalb zu erwarten, dass die Substituierung eines Wasserstoffatoms der Pyrazolonmolekel durch eine Amino- oder eine Dimethylaminogruppe die Affinität zur ChE erhöhen und daher im Konkurrenzversuch mit Acetyl-cholin den Abbau desselben stärker hemmen würde. Die Versuche führten aber zum gegenteiligen Ergebnis, indem nämlich Amino- und Dimethylamino-antipyrin deutlich weniger hemmten als Antipyrin. Auch die Tatsache, dass die beiden erstern fast genau die gleiche Wirkung zeigten, passt nicht zu der angedeuteten Annahme. Hingegen hatte der Ersatz der Dimethylamino- durch die isostere Isopropylgruppe eine gewaltige Steigerung der Affinität zur Folge.



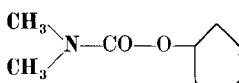
Aus diesen Versuchen geht eindeutig hervor, dass bei der Bildung des Ferment-Inhibitor-Komplexes nicht nur Aminogruppen, sondern auch andere Teile der Pyrazolonmolekel eine entscheidende Rolle spielen. Die gleiche Erscheinung fand sich bei der Sulfonamid-hemmung der ChE. Bei dieser hatte der Ersatz der Essigsäure des Acetyl-p-aminobenzolsulfonsäure-amid (Septazin) durch die Dimethylacryloylgruppe des Irgamids eine deutliche Erhöhung der

¹⁾ M. Ziff, F. P. Jahn und R. R. Renshaw, Am. Soc. **60**, 178 (1938).

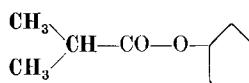
²⁾ W. Hanske, Z. angew. Ch. **54**, 357 (1941).

³⁾ H. Bloch, Arch. Exptl. Path. Pharm. **193**, 292 (1939).

Affinität zur ChE zur Folge, die mindestens so gross war, wie beim Ersatz der Dimethylacryloylgruppe durch den basischen Thiazolring des Cibalzols. Wie wenig einfach die Verhältnisse sind, geht aus der Tatsache hervor, dass in einem andern Fall der Ersatz der Isopropyl durch die Dimethylaminogruppe zu einer Erhöhung der Affinität führte. *Bloch*¹⁾ hatte nämlich gefunden, dass bei Pferde- und Menschenserum Prostigmin (I) die ChE viel stärker als der isostere Isobutyrylester des 3-Oxyphenyl-trimethylammonium-methylsulfats (II) hemmt.



I



II

N(CH₃)₃SO₄CH₃

Die Sulfonamid- und die Pyrazolonhemmung stimmen in allen bisher untersuchten Eigenschaften überein, sodass angenommen werden kann, dass sie vom gleichen Typus sind. Beide setzen sofort ein, sind reversibel, folgen der gleichen, durch die Formel $y = ax^{-b}$ ausgedrückten Gesetzmässigkeit und sind nicht allein von der Basizität der Inhibitormolekel abhängig. Beide Inhibitorengruppen hemmen die Serum-ChE des Meerschweinchens weniger als die des Menschen, bei diesem die Hirn-ChE weniger als die Serum-ChE (vgl. nachfolgende Mitteilung).

Dieses verschiedene Verhalten der Inhibitoren gegenüber einem Ferment je nach dessen Herkunft ist insofen bedeutsam, als inskünftig bei Hemmungsversuchen nur solche unmittelbar miteinander verglichen werden dürfen, die an Fermentpräparaten gewonnen wurden, die von Tieren gleicher Spezies, evtl. auch gleichen Alters und Geschlechts, und vom selben Organ stammen, da unter Umständen die tausendfache Inhibitorkonzentration angewandt werden muss, um die gleiche Wirkung am scheinbar gleichen Ferment von gleicher Aktivität, aber verschiedener Herkunft, zu erzielen.

Das gilt u. a. auch für den Spezialfall, wo die Wirksamkeit physiologisch, pharmakologisch oder therapeutisch aktiver Stoffe mit der Beeinflussung bestimmter Fermente durch diese Agentien verglichen wird. So hatte *Ammon*²⁾ kürzlich gefunden, dass eine Reihe von Lokalanaesthetica die Pferdeserum-ChE in wechselndem Ausmass hemmen, und versucht, die Grösse der Hemmung mit einer Reihe von pharmakologischen Eigenschaften in einen Zusammenhang zu bringen. Solche Experimente, so wichtig sie auch vom rein fermentchemischen Standpunkt aus sein mögen, können nach den

¹⁾ *H. Bloch*, Arch. Exptl. Path. Pharm. **193**, 292 (1939).

²⁾ *R. Ammon* und *K. Zipf*, Klin. Wschr. **20**, 1176 (1941).

Ergebnissen der vorliegenden Arbeit eine solche Frage nicht entscheidend beantworten, weil die Pferdeserum-ChE wie die ChE der Erfolgsorgane, also der nervösen Substanz, reagieren kann, aber nicht muss.

Es ist schliesslich hier noch die Frage zu erörtern, ob die beschriebene Wirkung der Pyrazolone, die fast alle therapeutisch verwendet werden, auch *in vivo* vorkommt und vielleicht an der therapeutischen Wirkung oder der unerwünschten Nebenwirkung mitbeteiligt ist. In diesem Zusammenhang sei hier nur noch die Frage der prinzipiellen Möglichkeit diskutiert: Pyrazolone können nach therapeutischen Dosen bei gleichmässiger Verteilung im Organismus eine molare Konzentration von 0,0001—0,0005 erreichen. Das sind Konzentrationen, die eine noch durchaus messbare Hemmung der ChE zur Folge haben (vgl. Fig. 1). Doch ist diese nur unbedeutend, sodass es fraglich erscheint, ob sie eine Rolle spielt. Aus den hier mitgeteilten Versuchen ist aber die Möglichkeit gegeben, dass in irgend einem Organ die ChE eine besonders hohe Affinität zu den Pyrazolonen besitzt und deshalb durch therapeutisch vorkommende Konzentrationen weitgehend ausgeschaltet wird. Eine tiefgreifende Änderung oder Störung der chemischen Nervenreizübertragung und der Organfunktion wäre damit die Folge. Das könnte beispielsweise in einer inkretorischen Drüse, in einem Hirnkern, für die beide gezeigt wurde, dass sie durch eine bestimmte ChE-Aktivität ausgezeichnet sind¹⁾²⁾, der Fall sein. Das Verhalten eines Fermentes nur eines Organs, etwa des Serums, sagt eben nichts Sichereres über das irgendeines andern Organs aus.

Zusammenfassung.

1. Die Cholin-esterase (ChE) wird durch eine Reihe von Pyrazolonen stark gehemmt. Die Hemmung tritt sofort ein und ist reversibel. Inhibitorkonzentration und Reaktionsgeschwindigkeit lassen sich durch die einfache Formel $y = ax^{-b}$ darstellen, wobei y die Reaktionsgeschwindigkeit und x die Inhibitorkonzentration ist.
2. Die Hemmung der ChE durch Sulfonamide ist ebenfalls reversibel.
3. Amino-antipyrin und Dimethylamino-antipyrin wirken weniger stark als Antipyrin, Isopropyl-antipyrin wesentlich stärker. Die Basizität der Inhibitormolekel ist nicht allein ausschlaggebend für die Grösse der Hemmung.
4. Wie die Diamine und Sulfonamide hemmen die Pyrazolone die Menschenserum-ChE wesentlich stärker als die Meerschweinchen-serum-ChE.

¹⁾ *H. Birkhäuser*, I. c.

²⁾ *H. Langemann*, I. c.

5. Bei der Hirn-ChE des Menschen (Nucleus caudatus, Putamen) und der Ratte ist die Hemmung durch Pyrazolone sehr viel kleiner als bei der Menschenserum-ChE.

6. In der Diskussion der Ergebnisse wird darauf hingewiesen, dass dieses unterschiedliche Verhalten der ChE gegenüber Inhibitoren je nach der Herkunft von einem bestimmten Organ oder einer Tierart berücksichtigt werden muss, wenn die Wirksamkeit physiologisch, pharmakologisch oder therapeutisch aktiver Stoffe mit dem Einfluss dieser Stoffe auf die ChE in Beziehung zu bringen versucht wird.

Ich danke Herrn Prof. Dr. R. Staehelin für die Erlaubnis, die Versuche im Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik Basel durchzuführen, Herrn Prof. Dr. A. Werthemann (Pathologisch-anatomische Anstalt der Universität) für die Überlassung von Sektionspräparaten, der Firma J. R. Geigy A.G. Basel für die zur Verfügung gestellten Pyrazolone und Fr. A. Buser für die wertvolle Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

116. Etude critique des réactifs des cations.

7. Réactifs des cations du thorium

par Paul Wenger et Roger Duckert.

(2. VII. 42.)

Dans ce même journal nous avons déjà publié des études sur le cobalt, le nickel, le manganèse, le zinc, le rhénium et le gallium¹⁾.

Nous continuons notre travail en publiant ce jour une étude sur l'élément thorium et nous donnons, suivant les mêmes principes que nous avons déjà exposés¹⁾ le choix des réactifs que nous avons fait et ceux qui doivent être mis de côté vu leurs caractères analytiques défavorables.

1) Réactifs des ions du thorium dont nous ne recommandons pas l'emploi.

Nous énumérons ci-dessous tous les réactifs que nous avons décidé d'écartier au cours de nos recherches; ils sont groupés en catégories définies par leur défaut caractéristique.

¹⁾ Helv. **24**, 657, 889, 1143 (1941) et Helv. **25**, 406, 599, 699 (1942).