Separatum EXPERIENTIA 16, 505 (1960)

Birkhäuser Verlag, Basel (Schweiz)

Über die Hemmung von Hurain, einer pflanzlichen Protease, durch Trypsininhibitoren

Hurain ist ein eiweissverdauendes Ferment aus dem Saft von Hura crepitans L. (Euphorbiaceae). Es ist von den Papainasen deutlich zu unterscheiden wegen seiner Resistenz gegen Oxydation, weil es von Glutathion und andern Aktivatoren von Papain nicht aktiviert wird und weil es Ascaris und andere Darmparasiten in vitro nicht angreift, wie es die Papainasen tun¹.

Aus der letztgenannten Eigenschaft wurde geschlossen, dass Hurain möglicherweise von Trypsininhibitoren in seiner Wirkung gehemmt wird, wie das Trypsin oder Chymotrypsin. In der vorliegenden Arbeit wurde diese

Möglichkeit experimentell bewiesen.

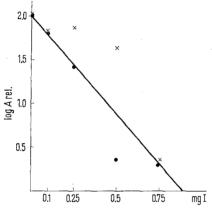
Material und Methoden. Hurain wurde aus dem Saft, der durch Einschnitte in den Stamm von Hura crepitans gewonnen wird, durch Filtrierung und Lyophilisierung dargestellt. Eine weitere Reinigung wurde in dieser Arbeit nicht vorgenommen. Das verwandte Trypsin war ein kommerzielles Präparat (Biochemical Preparation Inc. 1:150). Der kristallisierte Trypsininhibitor aus Soyabohnen wurde von derselben Firma bezogen, die Inhibitoren aus Ascaris und Bohnen wurden nach den entsprechenden Vorschriften der Literatur hergestellt^{2,3}. Die proteolytische Aktivität wurde nach der Methode von Anson⁴ mit leichten Modifikationen bestimmt.

Ergebnisse. In der Fig. wird das Ergebnis der Hemmung von Trypsin (1 mg/Versuch) und Hurain (6,6 mg/Versuch) durch verschiedene Mengen von Bohneninhibitor angegeben. Die Werte beider Fermente fallen unter Berücksichtigung der Streuung auf eine Gerade, wenn die Hemmstoffmengen gegen den Logarithmus der Fermentaktivität aufgetragen werden.

Der Vergleich der 3 geprüften Inhibitoren wird in der Tabelle vorgelegt. Es wurde in jedem Versuch mit 5 verschiedenen Mengen von Ferment und einer festen Menge

Hemmstoff He Trysin	Hemmung %	
	Trysin	Hurain
_	0	0
Bohnen	26.6	29.5
Ascaris	18.8	18.5
Soya	28.8	34.0

Hemmung von 3 Inhibitoren auf die proteolytische Wirkung von Trypsin und Hurain, ausgedrückt in % der Anfangsaktivität und errechnet pro mg Hemmstoff.



Hemmung von Trypsin und Hurain durch Bohnen-Hemmstoff. Abzisse. mg des Hemmstoffes. Ordinate. Log der Enzymaktivität nach Anson⁴. Jeder Ansatz bestand aus 5.0 ml Substrat, 1.0 ml Ferment (1 mg Trypsin oder 6.66 mg Hurain) und der entsprechenden Menge Hemmstoff. Die Fermentaktivität ohne Hemmstoff wird als 100% bezeichnet. Die Ferment- und Hemmstoffmengen wurden bestimmt als N×6.25.

von Hemmstoff (0.1 mg für Trypsin und 0.25 mg für Hurain) gearbeitet. Die Hemmung ist in % der Anfangsaktivität, die in Trypsineinheiten errechnet wurde, ausgedrückt und auf 1 mg Hemmstoff berechnet. Die Inhibierungswirkung der 3 geprüften Hemmsubstanzen war quantitativ fast gleich stark für beide untersuchte Enzyme.

Ein ausführlicherer Bericht über die hier mitgeteilten Versuche wird in Acta Científica Venezolana erscheinen.

W. G. JAFFÉ 5 und DINAH S. DE SEIDL

Facultád de Ciencias, Universidád Central de Venezuela, Caracas, 10. Mai 1960.

Summary

Hurain, a protease from the sap of the tree *Hura* crepitans L., is inhibited by trypsin inhibitors from soya, kidney beans, and ascaris.

¹ W. G. Jaffé, J. biol. Chem. 149, 1 (1943).

² N. M. Green, Biochem. J. 66, 416 (1957).

³ D. E. Bowman, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N. Y. 86, 491 (1954).

⁴ M. L. Anson, J. gen. Physiol. 22, 79 (1938/39).

⁵ Z. Zt. Max-Planck-Institut für Eiweiss- und Lederforschung, München 15.