



## Untersuchungen zur Hemmung der Acetylcholin- und Cholin-Esterase-Aktivität durch Flammschutzmittel auf Organophosphat-Basis

M. Nannen<sup>1</sup>, M. Bader<sup>1</sup>, N. Ulrich<sup>2</sup>, R. Wrbitzky<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Abteilung Arbeitsmedizin, Medizinische Hochschule Hannover, Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover

<sup>2</sup>Universität Hannover, Institut für Anorganische Chemie, Callinstr. 9, 30167 Hannover

### Ziel der Studie

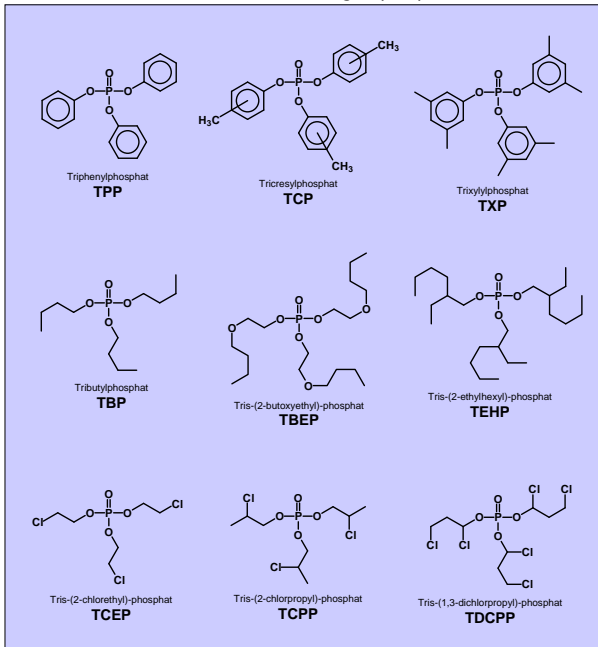
Flammschutzmittel auf Organophosphatbasis werden in einer Vielzahl von Kunststoffen, Textilien und Gebrauchsgegenständen zur Verbesserung der Produktsicherheit eingesetzt. Die zentrale neurotoxische Wirkung von bekannten Organophosphaten wie z.B. dem Parathion besteht in der Hemmung der Acetylcholin-/Cholin-Esterase (AChE bzw. ChE). Ob dies auch für Organophosphat-Flammschutzmittel gilt, sollte durch die Untersuchung einer enzymhemmenden Wirkung in Humanhämolysat und -serum geprüft werden.

### Durchführung

Die Untersuchung der Enzymaktivität in frischem Hämolysat bzw. in Serum erfolgte nach einem von der DFG empfohlenen Verfahren (Lewalter und Domik 1991). Dabei wird Acetylthiocholinjodid als Enzymsubstrat eingesetzt und in Acetat sowie Thiocholinjodid gespalten. Das Thiocholinjodid setzt anschliessend den gelben Farbstoff 5-Thio-2-nitrobenzoesäure aus Ellmanns Reagenz (5,5'-Dithio-bis-2-nitrobenzoesäure) frei. Der Farbstoff wird bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 405$  nm mit einem UV/VIS-Spektrometer detektiert. Die Hemmung der Enzymaktivität durch Organophosphate führt zur einer verringerten Extinktion gegenüber dem Ausgangswert. Zur Richtigkeitsüberprüfung wurde ein Kontrollserum (Precipath U, Roche Diagnostic) eingesetzt, es ergab sich eine Sollwertabweichung von ca. 1 %.

Die Hemmung der Esterasen wurde bei verschiedenen Konzentrationen (1, 10, 20, 50, 100 mM) der als Flammschutzmittel eingesetzten Verbindungen TPP, TCP, TXP, TBP, TBEP, TEHP, TCEP, TCP, TDCPP und TDCPP (Abb. 1) in fünfminütigen Abständen über jeweils eine Stunde hinweg untersucht. Als Vergleichssubstanz wurde Parathion verwendet.

Abb. 1: Aktuelle Flammschutzmittel auf Organophosphat-Basis



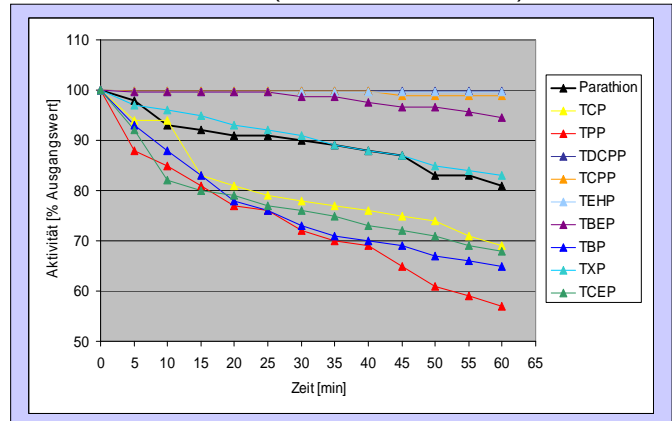
### Literatur

Lewalter J und Domik C (1991) Acetylcholinesterase (AChE; Acetylcholin-Acetylhydrolase EC 3.1.1.7) und Cholinesterase (ChE; Acylcholin-Acetylhydrolase EC 3.1.1.8). in: Angerer J, Schaller KH (Hrsg.) Analysen in biologischem Material, Ringbuchsammlung, 10. Lieferung 1991, Wiley-VCH, Weinheim

### Ergebnisse

Die Abb. 2 zeigt am Beispiel der Serum-Cholin-Esterase, dass die Flammschutzmittel TCP, TPP, TBP und TCEP bereits unmittelbar nach Beginn der Inkubation (hier: 100 mM Substrat) eine stärkere Enzymhemmung verursachten als das zu Vergleichszwecken mitgeführte Parathion. Im Verlauf einer Stunde erreichte das Triphenylphosphat eine Verminderung der Enzymaktivität um mehr als 40 % gegenüber dem Ausgangswert (Parathion: 20 %). Für das TXP wurde eine dem Parathion vergleichbare Hemmwirkung beobachtet. Demgegenüber ist die Wirkung der anderen Flammschutzmittel erheblich schwächer und erreicht auch bei der höchsten Substratkonzentration maximal 5 % Enzymhemmung. In Tab. 1 sind die Ergebnisse der Inkubationsversuche für die fünf enzymhemmenden wirksamen Flammschutzmittel sowie für das Parathion zusammengefasst.

Abb. 2: Verminderung der Aktivität der Serum-Cholin-Esterase [% Ausgangswert] durch Flammschutzmittel (100 mM Substratkonzentration)



Tab. 1: Zeit- und konzentrationsabhängige Hemmung [% Ausgangswert] von Acetylcholin-Esterase (rot) und Cholin-Esterase (blau) durch Flammschutzmittel

	Zeit	1 mM	10 mM	20 mM	50 mM	100 mM
TPP	10 min	96 (rot) 94 (blau)	93 (rot) 92 (blau)	92 (rot) 95 (blau)	90 (rot) 87 (blau)	87 (rot) 85 (blau)
	30 min	88 (rot) 85 (blau)	85 (rot) 83 (blau)	84 (rot) 95 (blau)	75 (rot) 75 (blau)	72 (rot) 70 (blau)
	60 min	76 (rot) 73 (blau)	73 (rot) 71 (blau)	72 (rot) 95 (blau)	62 (rot) 63 (blau)	60 (rot) 57 (blau)
TCP	10 min	100 (rot) 97 (blau)	98 (rot) 93 (blau)	100 (rot) 91 (blau)	92 (rot) 88 (blau)	85 (rot) 84 (blau)
	30 min	98 (rot) 93 (blau)	93 (rot) 86 (blau)	92 (rot) 83 (blau)	81 (rot) 79 (blau)	79 (rot) 78 (blau)
	60 min	95 (rot) 85 (blau)	87 (rot) 76 (blau)	86 (rot) 74 (blau)	74 (rot) 72 (blau)	70 (rot) 70 (blau)
TXP	10 min	100 (rot) 100 (blau)	100 (rot) 100 (blau)	100 (rot) 99 (blau)	100 (rot) 97 (blau)	100 (rot) 96 (blau)
	30 min	100 (rot) 100 (blau)	100 (rot) 97 (blau)	100 (rot) 96 (blau)	100 (rot) 95 (blau)	100 (rot) 91 (blau)
	60 min	100 (rot) 100 (blau)	100 (rot) 93 (blau)	100 (rot) 92 (blau)	100 (rot) 91 (blau)	98 (rot) 83 (blau)
TBP	10 min	100 (rot) 100 (blau)	100 (rot) 98 (blau)	100 (rot) 97 (blau)	100 (rot) 94 (blau)	100 (rot) 88 (blau)
	30 min	100 (rot) 100 (blau)	100 (rot) 92 (blau)	100 (rot) 90 (blau)	100 (rot) 84 (blau)	100 (rot) 73 (blau)
	60 min	100 (rot) 96 (blau)	100 (rot) 85 (blau)	100 (rot) 83 (blau)	100 (rot) 74 (blau)	100 (rot) 65 (blau)
TCEP	10 min	95 (rot) 90 (blau)	94 (rot) 87 (blau)	93 (rot) 85 (blau)	89 (rot) 83 (blau)	88 (rot) 81 (blau)
	30 min	87 (rot) 86 (blau)	78 (rot) 84 (blau)	77 (rot) 81 (blau)	75 (rot) 78 (blau)	73 (rot) 76 (blau)
	60 min	75 (rot) 83 (blau)	67 (rot) 80 (blau)	65 (rot) 77 (blau)	64 (rot) 73 (blau)	61 (rot) 68 (blau)
Parathion	10 min	100 (rot) 99 (blau)	100 (rot) 99 (blau)	100 (rot) 98 (blau)	97 (rot) 96 (blau)	94 (rot) 93 (blau)
	30 min	100 (rot) 97 (blau)	98 (rot) 96 (blau)	95 (rot) 91 (blau)	91 (rot) 91 (blau)	86 (rot) 90 (blau)
	60 min	95 (rot) 93 (blau)	91 (rot) 87 (blau)	91 (rot) 85 (blau)	84 (rot) 83 (blau)	76 (rot) 81 (blau)

### Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen zeigen, dass die Flammschutzmittel Triphenylphosphat, Tricresylphosphat, Trixylylphosphat, Tributylphosphat und Tris-(2-chlorethyl)-phosphat eine signifikante Acetylcholin- bzw. Cholin-Esterase-hemmende Wirkung aufweisen. Aufgrund der weiten Verbreitung dieser Stoffe am Arbeitsplatz und in der Umwelt sind daher weitere Forschungen zur Abschätzung und Bewertung der inneren Belastung von exponierten Personen mittels Biomonitoring erforderlich.