

Speziesunterschiede bei der Spaltung von Hexobendin durch Plasmaesterasen

(Received 26 June 1970; accepted 7 August 1970)

DAS VORKOMMEN und die Aktivität der Cholin-, Carboxyl- und Arylesterasen im Plasma weist große speziesabhängige Unterschiede auf.^{1–4} Diese Verschiedenheit muß bei der pharmakologisch-toxikologischen Prüfung von Arzneimitteln, die eine Esterbindung im Molekül besitzen, beachtet werden. In dieser Mitteilung soll die Spaltung von Hexobendin (*N,N'*-Dimethyl-*N,N'*-bis-(3-(3',4',5'-trimethoxybenzoyloxy)-propyl)äthylendiamin) im Plasma verschiedener Arten beschrieben werden. Es wurde Hexobendin mit radioaktivem ¹⁴C in der Carboxylgruppe der veresterten Trimethoxybenzoesäure verwendet (Österreichische Stickstoffwerke, Linz, Austria).

Das Plasma wurde aus mit Heparin ungerinnbar gemachtem Blut (0,05 mg Heparin pro ml Blut) von Albinoratten, Meerschweinchen, gemischtrassigen Kaninchen und Hunden und von Menschen gewonnen. 9 ml Plasma wurden mit 10 µg [¹⁴C]-Hexobendin, gelöst in 1 ml physiolog. NaCl-Lösung, bei 37° inkubiert. Zu den angegebenen Zeiten wurde 1 ml abpipettiert und sofort mit 2 ml Methanol gemischt, um durch Enteiweißung die esteratische Spaltung abubrechen. Dem Methanol waren Hexobendin, halbseitig hydrolysiertes Hexobendin ("Halbester") und Trimethoxybenzoesäure, je 100 µg/ml, als unmarkierte Vergleichssubstanz zugesetzt. Nach Zentrifugation wurde 1 ml Überstand einer Dünnschichtchromatographie unterworfen.

Zur Dünnschichtchromatographie wurden vorgefertigte Aluminiumfolien, DC-Karten SI F von Riedel de Haen AG (Hannover, Germany), Schicht: Kieselgel mit Fluoreszenzindikator, verwendet. Die Auftragung erfolgte strichförmig mit einem Autoliner nach Stahl (Fa. Desaga, Heidelberg, Germany). Als Laufmittel für die aufsteigende Chromatographie diente eine Mischung von Butanol-Methyläthylketon-Aceton-Ammoniak (33%)–Aqua dest. (40:40:25:8:13).⁵ Die Laufzeit für eine Laufstrecke von ca 8 cm betrug 60 min. Unter den angegebenen Chromatographiebedingungen erhält man für Hexobendin einen *R_f*-Wert von 0,8, für den "Halbester" von 0,5 und für die Trimethoxybenzoesäure von 0,3. Die Zonen wurden unter einer u.v.-Lampe markiert und von der Platte geschabt. Die einzelnen Proben wurden nach Zugabe von 1 ml Methanol und 9 ml Dioxan-Scintillator⁶ 10 min mit einem Tri-carb Liquid Scintillation Spectrometer, Modell 3002 (Packard Instrument Comp., Illinois, USA) gemessen.

Bestimmt man die Spaltung von 1 µg/ml Hexobendin im Plasma verschiedener Spezies, so ergibt sich folgendes Bild (Abb. 1): Im Plasma von Mensch und Hund wird Hexobendin nicht gespalten. Bei der Ratte hingegen sind nach 60 min 40% des zugesetzten [¹⁴C]-Hexobendins zu gleichen Teilen als [¹⁴C]-Halbester und [¹⁴C]-Trimethoxybenzoesäure nachweisbar. Im Meerschweinchenplasma verläuft die Spaltung noch schneller. Schon nach 10 min Inkubation bei 37° ist praktisch kein Hexobendin mehr nachzuweisen. Die Halbwertszeit beträgt 1–2 min. Der [¹⁴C]-Halbestergehalt steigt im Versuchsansatz in den ersten 10 min auf einen Maximalwert von ca 40% an und fällt dann wieder ab. Daraus läßt sich für die Spaltung des Halbesters eine Halbwertszeit von ca. 20–22 min ablesen. Die Spaltungsgeschwindigkeit für den Halbester ist somit zehnmal kleiner als für Hexobendin.

Beim Studium der Hexobendin-Spaltung im Kaninchenplasma fiel auf, daß sich die einzelnen Tiere in ihrer Fähigkeit, Hexobendin zu spalten stark unterscheiden. So werden nach einer Inkubationszeit von 60 min zwischen 20 und 85% unverändertes Hexobendin wiedergefunden.

Diese Befunde stehen in guter Übereinstimmung mit dem Vorkommen der Carboxylesterase (EC 3.1.1.1).^{1–4} und mit der Spaltung verschiedener Ester im Plasma verschiedener Spezies.^{7–11} So wird Hexobendin im Meerschweinchenplasma am raschesten gespalten. Dort ist auch die höchste Carboxylesteraseaktivität nachgewiesen worden.^{1,2} Im Plasma von Mensch und Hund, wo keine Hexobendinspaltung stattfindet, fehlt auch die Carboxylesterase.^{1,2}

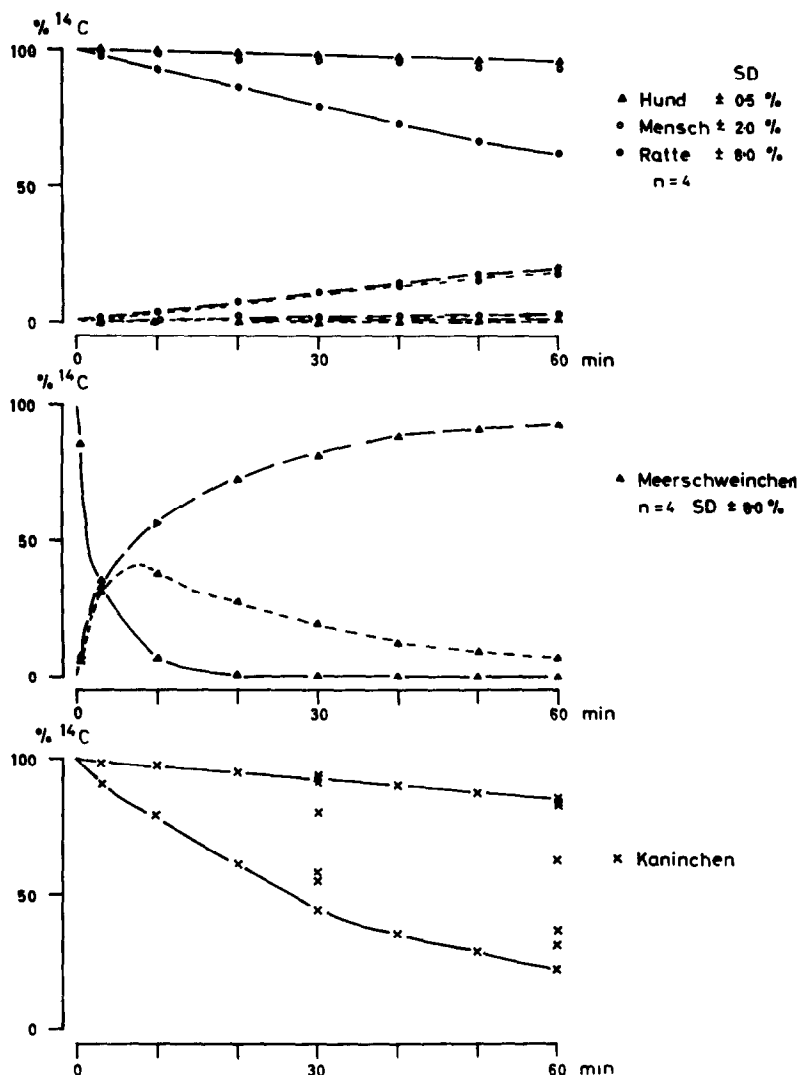


ABB. 1. Verteilung der [¹⁴C]-Aktivität auf Hexobendin und seine Spaltprodukte in Prozenten des zugesetzten [¹⁴C]-Hexobendins. Die einzelnen Punkt stellen Mittelwerte aus 4 Versuchen dar. Beim Kaninchen sind die Mittelwerte, die aus 4 Einzelversuchen mit 2 Kaninchenrassen gewonnen wurden (× ——— ×), und die Einzelwerte von gemischten Rassen (×) wiedergegeben. ——— Hexobendin, - - - - "Halbester" — — Trimethoxybenzoesäure.

REFERENCES

1. W. N. ALDRIDGE, *Biochem. J.* **53**, 110 (1953).
2. K. B. AUGUSTINSON, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **94**, 844 (1961).
3. A. R. HESS, R. W. ANGEL, K. D. BARRON and J. BERNSON, *Clin. Chim. Acta* **8**, 656 (1963).
4. D. K. MYERS, *Biochem. J.* **51**, 303 (1952).
5. H. STORMANN, personal communication.
6. G. A. BRAY, *Anal. Biochem.* **1**, 279 (1960).
7. R. AMMON and W. SAVELSBERG, *Z. Physiol. Chem.* **284**, 135 (1949).
8. D. GLICK and S. GLAUBACH, *J. gen. Physiol.* **25**, 197 (1941).
9. F. MARGOLIS and P. FEIGELSON, *J. biol. Chem.* **238**, 2620 (1963).
10. M. KLARWEIN and R. E. NITZ, *Arzneimittelforsch.* **15**, 555 (1965).
11. N. SEILER, L. KAMENIKOVA and G. WERNER, *Z. Physiol. Chem.* **349**, 692 (1968).