

ENTALKYLIERUNG VON ÄTHYLMORPHIN UND *p*-C-HYDROXYLIERUNG VON ANILIN IN LEBERMIKROSOMEN VON MENSCHEN UND VON MÄNNLICHEN UND WEIBLICHEN RATTEN*

ELSE ACKERMANN

Dresden Medizinische Akademie "Carl Gustav Carus," Abteilung für Klinische Pharmakologie,
Dresden, Deutsche Demokratische Republik

(Received 14 December 1971; accepted 18 February 1972)

Abstract—The V_{\max} and apparent K_m of ethylmorphine (Type I difference spectrum with microsomes) and aniline (Type II difference spectrum with microsomes) were determined for liver microsomes of human beings and compared with those from male and female Wistar rats. The V_{\max} values of both substrates in human liver microsomes were 20 and 30 per cent respectively of those found for liver microsomes of male Wistar rats. The V_{\max} of female Wistar rats did not differ significantly from those found in man. The apparent K_m value of ethylmorphine in human liver microsomes was about 20 times higher than in rat liver microsomes. In contrast to these findings the apparent K_m of aniline in human liver microsomes was of the same order of magnitude as corresponding values found in rat liver microsomes. The apparent K_m of ethylmorphine was shown to be 6 mM in human liver microsomes. This value was 100 times higher than that of aniline. The V_{\max} values calculated in human microsomes indicate that there is no quantitative correlation between metabolic capacity and cytochrome P-450 content.

DIE AKTIVITÄT der mischfunktionellen Oxidasen variiert bei den Spezies^{1–4} und ist auch vom Geschlecht abhängig.^{5–8} Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß eine Reihe von Verbindungen auch in der menschlichen Leber bzw. in der Mikrosomenfraktion^{9–12} durch mischfunktionelle Oxidationen umgewandelt wird.

Die bisher beim Menschen ermittelten maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten (V_{\max}) und scheinbaren Michaelis-Menten Konstanten (K_m) ergaben bei einigen Substraten z. T. erhebliche Abweichungen von denen der männlichen Ratte. Dagegen zeigten die Reaktionsgeschwindigkeiten in Lebermikrosomen weiblicher Ratten nur geringe Unterschiede zu den am Menschen gefundenen.¹² Diese Versuchsergebnisse ließen an die Möglichkeit denken, daß die beim Menschen im Vergleich zur männlichen Ratte kleineren V_{\max} und größeren K_m durch Hormone oder andere endogene Substrate bedingt sein könnten. Deshalb wurden in die Versuche zwei Substrate einbezogen, die wie Äthylmorphin bei der Ratte große und wie Anilin keine Geschlechtsunterschiede hinsichtlich ihrer Kinetik aufweisen. Diese Verbindungen erschienen auch deshalb interessant, weil Äthylmorphin und Anilin in einer Cytochrom P-450 enthaltenden Mikrosomenfraktion der Leber im Differenzspektrum unterschiedliche Bindungstypen zeigen (Typ I und Typ II).

* Auszugsweise vorgetragen auf der 2. Gemeinschaftstagung der Gesellschaften und Arbeitsgemeinschaften in der Deutschen Gesellschaft für experimentelle Medizin, Leipzig, September 1970.

METHODIK

Durchführung der Versuche und Material

Die Versuche wurden an chirurgisch gewonnenen Leberproben lebergesunder Patienten durchgeführt. Wegen der kleinen Gewichtsmengen (0,15 bis 0,3 g) mußten aus technischen Gründen zwei bis drei Leberproben gepoolt werden. Das Gewebematerial wurde dann wie bereits beschrieben¹¹ in einem Potter-Elvehjem Homogenisator in einer Saccharose-EDTA-Tris-Lösung homogenisiert¹³ und in einer präparativen Ultrazentrifuge Typ VAC 60 der Fa. Janetzki, Leipzig, fraktioniert. Wegen der kleinen Gewichtsmengen mußten die Homogenate so verdünnt werden, daß 1 ml etwa 0,05 bis 0,08 Feuchtgewicht entsprach. Da Geschlechtsunterschiede im Arzneimittelmetabolismus beim Menschen bisher nicht bekannt sind, wurde auf eine Trennung der Leberproben nach Geschlecht verzichtet. Das Verhältnis des männlichen zum weiblichen Geschlecht war 1:3. Die männlichen Probanden hatten ein Durchschnittsalter von 43, die weiblichen von 50 Jahren. Insgesamt wurden Leberproben von 27 cholezystektomierten Patienten verwendet.

Um eine Induktion des Arzneimittelmetabolismus oder Interferenz mit den eingesetzten Substraten zu vermeiden, wurde auf eine Prämedikation und auch Hexobarbital zur Narkoseeinleitung verzichtet. Aus den gleichen Gründen wurden nur solche Patienten ausgewählt, bei denen ein Arzneimittelabusus ausgeschlossen werden konnte.

Als Vergleich dienten Wistar Ratten einer Koloniezucht mit einem Gewicht zwischen 200 und 220 g. Die Tiere wurden bis zu 12 Stunden vor dem Töten nüchtern gehalten. Für jede Präparation der Mikrosomenfraktion wurden drei Lebern gepoolt und unter den gleichen Bedingungen wie für menschliche Leber beschrieben aufgearbeitet. Das Homogenat wurde so verdünnt, daß 1 ml 0,2 g Feuchtgewicht entsprach.

Kofaktoren und Bestimmung der N-Demethylierung von Äthylmorphin und der p-Hydroxylierung von Anilin

Das Inkubationsvolumen von 1 ml enthielt die Mikrosomenfraktion menschlicher Leber in einer Menge, die einer Proteinkonzentration von etwa 0,2 bis 0,4 mg/ml entsprach. Die Proteinkonzentration in Inkubaten mit Rattenlebermikrosomen betrug maximal 1 mg/ml. Die Kofaktoren waren in folgender Endkonzentration im Inkubationsgemisch enthalten; NADPH 0,1 mM, Glukose-6-phosphat 5 mM, $MgCl_2$ 5 mM und eine aliquote Menge des 100,000 g Überstandes (ungefähr entsprechend 0,4 mg Protein/ml Inkubat), um durch Reduktion des während der Inkubation entstandenen NADP eine ausreichend hohe Konzentration von NADPH zu behalten.

Zur Bestimmung der V_{max} und scheinbaren K_m wurde Äthylmorphin in Versuchen mit Lebermikrosomen des Menschen in einem Konzentrationsbereich zwischen 0,6 und 20 mM eingesetzt. Für Anilin lagen die Konzentrationen für beide Spezies zwischen 0,06 und 0,4 mM. Alle Substanzen wurden in 0,05 M Tris-HCl Puffer pH 7,5 gelöst. Die Inkubationsansätze enthielten Semikarbazid in einer Endkonzentration von 13 mM, wenn Äthylmorphin als Substrat eingesetzt und Formaldehyd nach der Methode von Nash¹⁴ bestimmt wurde. Der Nachweis von p-Aminophenol erfolgte mit der Phenyl-Indophenol Methode.¹⁵

Als Leerwerte dienten Ansätze mit Mikrosomen und Kofaktoren, aber ohne Substrat. Wegen der geringen metabolischen Aktivität in menschlichen Lebermikrosomen

mußten die Ansätze 40 min bei 37° unter atmosphärischen Bedingungen inkubiert werden. Für Inkubate mit Rattenlebermikrosomen genügten 20 min, um eine für unsere Versuchsbedingungen ausreichende Menge Reaktionsprodukt entstehen zu lassen. Die Ablesung des nach Stabilisierung entstandenen Farbkomplexes¹² erfolgte in Mikroküvetten mit einer Schichtdicke von 2 cm im Unicam SP 800 bei 415 nm (Formaldehydbestimmung) bzw. 620 nm (Aminophenol).

Eiweißbestimmung

Protein wurde nach der Methode von Lowry¹⁶ mit Rinderserumalbuminalstandard bestimmt.

Berechnung der Michaelis–Menten Konstanten, der maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten und Statistik

Die scheinbaren Michaelis–Menten Konstanten (K_m) wurden graphisch nach der Methode von Lineweaver und Burk nach Berechnung der Regressionsgeraden ermittelt bzw. mit Hilfe des Regressionskoeffizienten nach

$$K_m = \frac{b}{y - bx}$$

berechnet.

Es bedeuten;

y = Mittelwert der reziproken Reaktionsgeschwindigkeiten V

x = Mittelwert der reziproken Substratkonzentrationen S

b = Regressionskoeffizient

Der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der y -Achse ergab die reziproken maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten $1/V_{\max}$.

Chemikalien

NADPH 90%; VEB Arzneimittelwerk Dresden

Glukose-6-phosphat Natriumsalz; Reanal Budapest

Äthylmorphin. HCl: DAB 7,

Anilin reinst; VEB Laborchemie Apolda

Semikarbazid. HCl: VEB Berlin-Chemie.

Abkürzungen

NADPH: Nikotinsäureamid–adenindinukleotid–phosphat reduziert

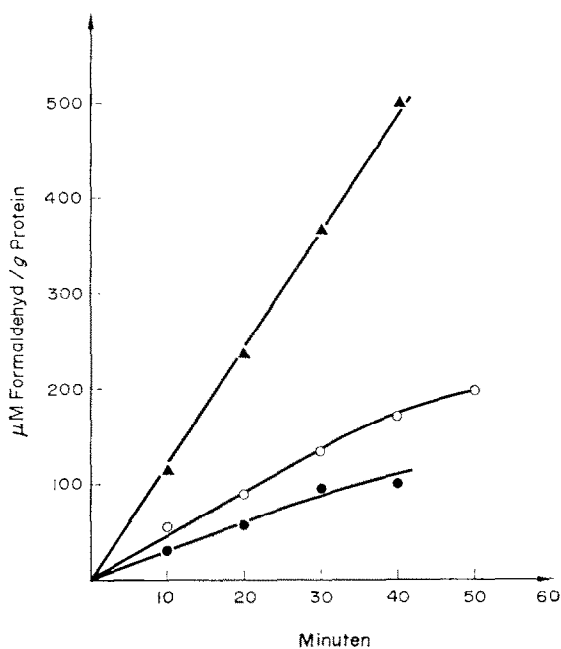
V_{\max} : maximale Reaktionsgeschwindigkeit

K_m : Michaelis–Menten Konstante.

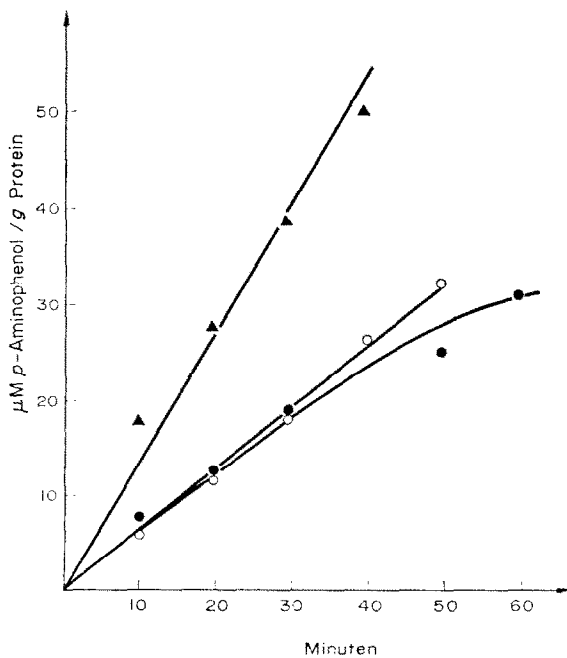
ERGEBNISSE

Reaktionsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

Die Abb. 1 zeigt die Abhängigkeit der Substratoxidation von der Inkubationszeit. Mit Äthylmorphin als Substrat (1a) besteht unter den angegebenen Reaktionsbedingungen Linearität bis zu 40 min. Bei Substratsättigung nimmt die metabolische



(a)



(b)

ABB. 1. Reaktionsgeschwindigkeiten bei Substratsättigung in Abhängigkeit von der Inkubationszeit, (a) Äthylmorphin, (b) Anilin. Substratkonzentration; 10 mM (Mensch) bzw. 8 mM (Ratte) Äthylmorphin und 1 mM (Mensch) bzw. 4 mM (weibliche Ratte) und 0,8 mM (männliche Ratte) Anilin. Proteinkonzentrationen; 0,29 mg/ml (Mensch), 0,23 mg/ml (männliche Ratte) bzw. 0,18 mg/ml (weibliche Ratte) mit Äthylmorphin als Substrat und 1,0 mg/ml (weibliche Ratte) bzw. 0,46 mg/ml (männliche Ratte) mit Anilin als Substrat ●—● Mensch, ▲—▲ männliche Ratte, ○—○ weibliche Ratte.

Aktivität zu jedem Zeitpunkt in der Reihenfolge männliche Ratte, weibliche Ratte, Mensch ab. Keine Unterschiede zwischen Mensch und weiblicher Ratte zeigen sich in der pro Zeit entstandenen Menge *p*-Aminophenol (1b). In Übereinstimmung mit den Äthylmorphinversuchen ist die metabolische Aktivität mit Anilin als Substrat bei der männlichen Ratte am höchsten.

V_{\max} und scheinbare K_m von Äthylmorphin und Anilin

Zwischen männlicher und weiblicher Ratte bestehen für Äthylmorphin große Unterschiede in den V_{\max} .³⁻⁸ In unseren Versuchen ist die V_{\max} bei männlichen Wistar Ratten sogar $5 \times$ größer als bei den weiblichen. Menschliche Lebermikrosomen haben die gleiche V_{\max} wie die der weiblichen Ratte. Die scheinbaren K_m zeigen ein anderes Verhalten: trotz der Unterschiede in den V_{\max} zwischen männlichen und weiblichen Wistar Ratten sind die K_m nicht signifikant verschieden. Dagegen ist die scheinbare K_m von Äthylmorphin in menschlichen Lebermikrosomen annähernd $20 \times$ größer als in der entsprechenden Rattenleberfraktion (Tabelle 1).

Die Abb. 2 zeigt einen mit diesem Substrat typischen Verlauf der Regressionsgeraden, aufgetragen nach der Methode von Lineweaver und Burk. Die kinetischen Daten wurden in einer Mikrosomenfraktion ermittelt, die aus Leberproben von drei weiblichen cholezystektomierten Patienten mit einem Alter von 56 und 42 Jahren präpariert wurde.

Mit Anilin als Substrat ist die V_{\max} bei der männlichen Ratte etwa $2,5 \times$ größer als bei der weiblichen (Tabelle 2). Ähnlich wie mit Äthylmorphin ist die V_{\max} beim Menschen nicht signifikant von dem in der weiblichen Ratte errechneten Wert verschieden. Ein Unterschied ergibt sich nur zwischen Mensch und männlicher Ratte. Im Gegensatz zu Äthylmorphin sind die scheinbaren K_m für Anilin um eine Zehnerpotenz kleiner. Die auf Abb. 3 angegebenen kinetischen Daten wurden aus einer Mikro-

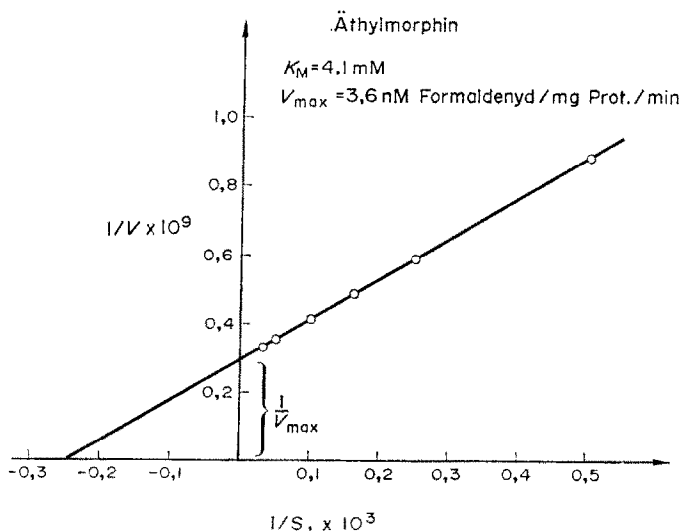


Abb. 2. Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Äthylmorphinkonzentration. Aufgetragen sind die reziproken Substratkonzentrationen $1/S$ gegen die reziproken Reaktionsgeschwindigkeiten $1/V$ (Formaldehyd) nach der Methode von Lineweaver und Burk.

TABELLE 2. V_{\max} UND SCHEINBARE K_m VON ANILIN BEIM MENSCHEN, BEI DER MÄNNLICHEN UND WEIBLICHEN RATTE

V_{\max} (nM <i>p</i> -Aminophenol/mg Prot./min)				Anilin		K_m (mM)	
Mensch		Ratte		Mensch		Ratte	
<i>n</i>		Weiblich	Männlich	<i>n</i>		Weiblich	Männlich
8 (24)	0,48 ± 0,009*	0,61 ± 0,01*	1,6 ± 0,19	8 (24)	0,069 ± 0,012	0,039† ± 0,005	7 (21)
							0,044 ± 0,007

V_{\max} und K_m bei Mensch und Ratte beiderlei Geschlechts. In Klammern die Gesamtzahl der gepoolten Lebern. Angegeben ist der mittlere Fehler des Mittelwerts. (V_{\max} verglichen mit der männlichen Ratte, K_m verglichen mit dem Menschen.)

* $P < 1\%$.

† $P < 5\%$.

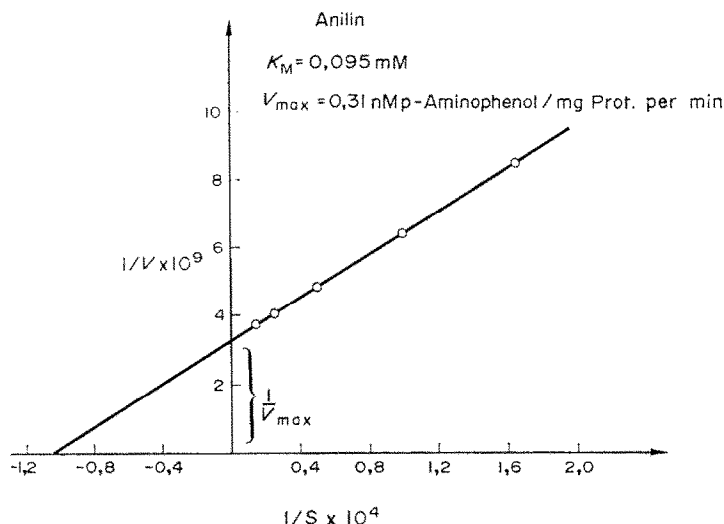


ABB. 3. Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Anilinkonzentration. Aufgetragen sind die reziproken Substratkonzentrationen $1/S$ gegen die reziproken Reaktionsgeschwindigkeiten $1/V$ (p-Aminophenol) nach der Methode von Lineweaver und Burk.

somenfraktion gewonnen, die aus Leberproben von drei weiblichen cholezystektomierten Patienten mit einem Alter von 68, 65 und 54 Jahren präpariert worden war. Die beim Menschen gefundene scheinbare K_m von 0,069 mM unterscheidet sich von dem in der weiblichen Ratte ermittelten Wert nur mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P = 5\%$. Keine Signifikanz besteht zwischen Mensch und männlicher Ratte.

Anilindifferenzspektrum

Aus Mangel an ausreichenden Mengen menschlicher Mikrosomen war es nur möglich, den spektralen Bindungstyp von Anilin zu bestimmen. Die Abb. 4 zeigt ein auch für andere Spezies beschriebenes Typ II—Spektrum mit einem Maximum bei 430 nm und einem Minimum bei 400 nm.

Scheinbare K_m und V_{\max} für Äthylmorphin und Anilin in männlichen und weiblichen Probanden

Aus methodischen und technischen Gründen war es uns nicht möglich, das chirurgisch entnommene Lebergewebe einzeln und nach Geschlecht zu fraktionieren. Die ermittelten V_{\max} und scheinbaren K_m bestehen somit aus gepoolter Leber männlicher und weiblicher, nur weiblicher oder weniger männlicher Probanden. Um die Frage der Geschlechtsunterschiede beim Menschen zu klären, wurde versucht, die V_{\max} und scheinbaren K_m der ausschließlich männlichen und weiblichen Leberproben zu vergleichen. Die Tabelle 3 zeigt, daß die Kinetik nicht geschlechtsabhängig zu sein scheint. Auch die V_{\max} aus gepoolter Leber je eines männlichen und weiblichen Probanden ergeben ebenso wie die scheinbaren K_m keine wesentlichen Abweichungen von den nur aus männlichen oder weiblichen Lebern gewonnenen Werten.

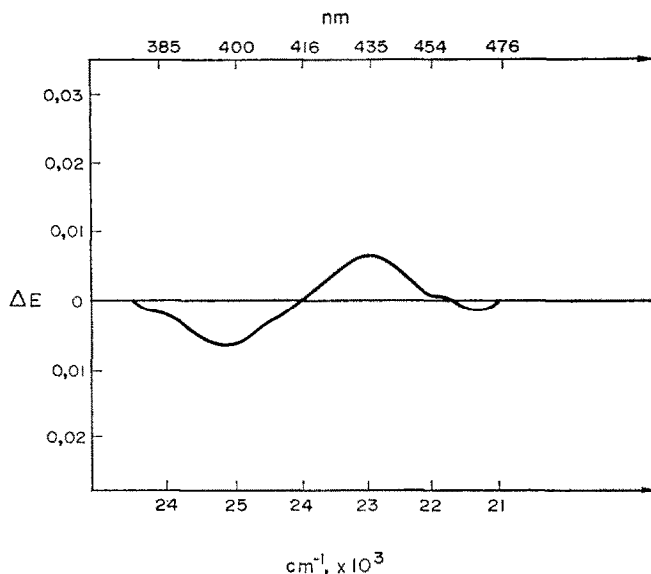


ABB. 4. Durch Anilin erzeugtes Differenzspektrum in Lebermikrosomen weiblicher Probanden. Anilinkonzentration: 2 mM, Proteinkonzentration: 0,42 mg/ml Ansatz = 0,15 nMol Cytochrom P-450, Schichtdicke der Mikroküvetten: 2 cm. Die Registrierung erfolgte mit einem Unicam SP 800. Zur Skalendehnung wurde ein 10 Zoll Beckman-Schreiber verwendet.

TABELLE 3. V_{\max} UND SCHEINBARE K_m VON ANILIN UND ÄTHYLMORPHIN BEI MÄNNLICHEN UND WEIBLICHEN PROBANDEN

V_{\max} (nM/mg Prot./min)			Anilin			K_m (mM)	
Weiblich	Männlich	Weiblich/ Männlich*	Weiblich	Männlich	Weiblich/ Männlich*	Weiblich	Männlich
0,42	0,59	0,56	0,094	0,03	0,024		
0,31		0,36	0,095		0,100		
0,47		0,32	0,032		0,092		
		0,78			0,086		
V_{\max} (nM/mg Prot./min)			Äthylmorphin			K_m (mM)	
Weiblich	Männlich	Weiblich/ Männlich*	Weiblich	Männlich	Weiblich/ Männlich*	Weiblich	Männlich
4,5	6,7	6,25	2,3	6,0	11,0		
3,6	3,13	5,9	4,1	12,5	4,25		
5,1			1,9				
2,3			3,5				

* Bedeutet Keilexzision aus der Leber je eines weiblichen und eines männlichen Probanden (1:1).

DISKUSSION

Die bereits von anderen Autoren³ an Sprague-Dawley Ratten gefundenen Geschlechtsunterschiede in den V_{\max} für Äthylmorphin konnten in unseren Versuchen auch an Wistar Ratten bestätigt werden. Allerdings war die mit unserer Versuchsanordnung ermittelte V_{\max} mit 22 nM/mg Protein/min doppelt so groß wie die von Davies *et al.*³ angegebene, während sich für die weibliche Ratte keine Abweichungen ergaben. Ursache dieser Differenzen sind vielleicht Unterschiede im Lebensalter der Tiere und Stamm.⁶ Auch Speziesunterschiede sind mit diesem Substrat bereits untersucht. So sind die Reaktionsgeschwindigkeiten von Äthylmorphin in der Mikrosomenfraktion der weiblichen Maus 14 mal größer als in der des Kaninchens. Die V_{\max} wird bei männlichen Tieren in der Reihenfolge Maus, Ratte, Kaninchen kleiner, während sich für die weiblichen Tiere die Reihenfolge Maus, Kaninchen, Ratte ergibt.¹⁷ Die in Lebermikrosomen des Menschen ermittelten V_{\max} sind kleiner als die in der entsprechenden Leberfraktion der männlichen Ratte bzw. nicht signifikant verschieden von den in der weiblichen Ratte gefundenen Werten. Damit würde die Spezies Mensch an letzter Stelle der von Davies aufgestellten Reihe stehen.

Nach Untersuchungen von Kato⁵ bestehen für Anilin keine Unterschiede in den Reaktionsgeschwindigkeiten zwischen männlichen und weiblichen Ratten. Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen bildeten männliche Wistar Ratten etwa 3 mal so viel *p*-Aminophenol wie weibliche Ratten und etwa $5 \times$ so viel wie der Mensch. Damit scheint sich Anilin hinsichtlich der ermittelten V_{\max} ähnlich zu verhalten wie Äthylmorphin, obgleich es einem anderen Bindungstyp angehört.

Unterschiede zwischen Mensch und Ratte ergeben sich für Äthylmorphin erst bei Vergleich der K_m . Eine Erklärung für die etwa $20 \times$ größere scheinbare K_m in menschlichen Lebermikrosomen im Vergleich zu der entsprechenden Fraktion in Ratten beiderlei Geschlechts läßt sich aus den vorliegenden Ergebnissen nicht ableiten. Die Mikrosomenfraktion der menschlichen Leber zeigt unter unseren Fraktionierungsbedingungen eine größere Verunreinigung mit Fremdeiweiß als die entsprechende Rattenleberfraktion.¹¹ Eine Bindung des Substrats an unspezifische Proteine kann die K_m beeinflussen, erklärt aber nicht die Unterschiede um den Faktor 20. Wahrscheinlicher ist eine Kompetition mit bereits an das Cytochrom P-450 gebundenen endogenen Substraten. Dafür spricht auch die nur geringfügige Steigerung der Reduktion des Cytochrom P-450 durch die NADPH-Cytochrom *c*-Reduktase in Gegenwart von Äthylmorphin.¹⁸ Auch bei der weiblichen Ratte ist die durch Äthylmorphin bedingte Reduktionsgeschwindigkeit nur minimal beschleunigt, läuft aber in männlichen Ratten unter gleichen Versuchsbedingungen bis zu 100% schneller ab.¹⁹ Durch Kastration läßt sich andererseits in männlichen Ratten die Oxidationsgeschwindigkeit einiger Substrate herabsetzen und die scheinbare K_m erhöhen. Östrogene senken außerdem die Bindungsaffinität einiger Substrate zum Cytochrom P-450.²⁰ Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß Aminophenazon in einer Mikrosomenpräparation des Menschen im Gegensatz zur Ratte ein modifiziertes Typ II-Spektrum ergibt.²¹ In weiteren Untersuchungen müßte geklärt werden, ob auch andere Typ I-Verbindungen, zu denen Äthylmorphin gehört, einen von der Ratte abweichenden spektralen Bindungstyp zeigen.

Im Unterschied zu Substraten vom Typ I bleibt der Anilin P-450-Komplex in einem low spin Zustand.²² Die Reduktionsgeschwindigkeit des oxidierten Cytochrom P-450 wird im Gegensatz zu Äthylmorphin durch Anilin bei der Ratte gehemmt.¹⁹

Die scheinbaren K_m von Anilin sind für Mensch und Ratte beiderlei Geschlechts im Gegensatz zu einigen Typ I-Substraten ungewöhnlich klein¹² und unterscheiden sich nur unwesentlich voneinander. Das Ferrihämochromogenspektrum in beiden Spezies ist ein Beweis für die Eisen-Stickstoff-Bindung, die das spektrale Verhalten und die Affinität zum Cytochrom P-450 determiniert. Die im Vergleich zum Äthylmorphin unterschiedliche Bindung des Anilin an das Cytochrom P-450 könnte als Ursache für die geringeren Speziesunterschiede der scheinbaren K_m in Betracht gezogen werden.

Die beim Menschen und der weiblichen Ratte im Vergleich zu Äthylmorphin kleinen V_{max} lassen keine Aussage über den Gesamtumsatz des Anilin zu. Neben der von uns gemessenen *p*-Hydroxylierung besteht noch die Möglichkeit einer Hydroxylierung in *o*-Stellung und einer N-Hydroxylierung mit den Metaboliten Phenylhydroxylamin bzw. Nitrosobenzol. Unter Berücksichtigung aller Metabolite ergäbe sich wahrscheinlich eine höhere Gesamtaktivität und möglicherweise in Abhängigkeit von der Spezies ein unterschiedliches Metabolitspektrum.

Die V_{max} zeigen keine Beziehung zur Cytochrom P-450 Konzentration.¹⁹ Auch beim Menschen scheint keine Korrelation zwischen der P-450 Konzentration und den V_{max} von Äthylmorphin und Anilin zu bestehen (Tabelle 4): die männliche Ratte hat mit beiden Substraten größere V_{max} als der Mensch und die weibliche Ratte.*

TABELLE 4. V_{max} VON ÄTHYLMORPHIN UND ANILIN BEZOGEN AUF CYTOCHROM P-450

	Cytochrom P-450 nM/mg Protein	Äthylmorphin nM/nM Cyt. P-450/min und im Verhältnis	Anilin nM/nM Cyt. P-450/min und im Verhältnis
Mensch	0,197 ± 0,02	23,9 1	2,4 1
Männl. ratte	0,389 ± 0,03	57,0 2,4	4,1 1,7
Weibl. ratte	0,317 ± 0,04	14,9 0,63	1,9 0,8

Die beim Menschen vergleichsweise kleinen V_{max} und die großen scheinbaren K_m von Äthylmorphin und anderen Typ I-Substraten lassen vermuten, daß die Bindung an das Cytochrom P-450 möglicherweise durch endogene Substrate behindert ist. Die fehlenden Spezies- und Geschlechtsunterschiede in den scheinbaren K_m von Anilin lassen sich durch die andersgeartete Bindung an das Cytochrom P-450 erklären.

Danksagungen—Besonderer Dank gilt den Herren Dr. Herwig und Dr. Haumann von der Chirurgischen Klinik der Medizinischen Akademie "Carl Gustav Carus" in Dresden für die Vorbereitung der Patienten und die Biopsie der Leber sowie Frau Hanna Greßler und Frau Leonore Morgenstern für die technische Assistenz.

LITERATUR

1. G. J. QUINN, J. AXELROD and B. B. BRODIE, *Biochem. Pharmac.* **1**, 152 (1958).
2. J. V. DINGELL, F. SULSER and J. R. GILLETTE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **143**, 14 (1964).
3. D. S. DAVIES, P. GIGON and J. R. GILLETTE, *Life Sci.* **8**, Part II, 85 (1969).
4. HOWARD B. HUCKER, *Ann. Rev. Pharmac.* **10**, 99 (1970).

* Die in Tabelle 4 angegebenen Cytochrom P-450 Konzentrationen sind kleiner als die bisher veröffentlichten.¹⁹ Die Ursache für diese Abweichung ist möglicherweise im Streulicht zu suchen, das durch Verwendung von Mikroküvetten mit einer Schichtdicke von 2 cm entstehen könnte.

5. R. KATO and J. R. GILLETTE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **150**, 285 (1965).
6. R. L. FURNER, TH. E. GRAM and R. E. STITZEL, *Biochem. Pharmac.* **18**, 1135 (1969).
7. J. B. SCHENKMAN, I. FREY, H. REMMER and R. W. ESTABROOK, *Molec. Pharmac.* **3**, 516 (1967).
8. D. S. DAVIES, PH. L. GIGON and J. R. GILLETTE, *Biochem. Pharmac.* **17**, 1865 (1968).
9. R. KUNTZMAN, L. E. MARK, L. BRAND, M. JACOBSON, W. LEVIN and A. H. CONNEY, *J. Pharmac. exp. Ther.* **152**, 151 (1966).
10. J. P. CREAVEN and R. T. WILLIAMS *Biochem. J.* **87**, 19 (1963).
11. E. ACKERMANN und I. HEINRICH, *Biochem. Pharmac.* **19**, 327 (1970).
12. E. ACKERMANN, *Biochem. Pharmac.* **19**, 1955 (1970).
13. K. LEYBOLD und H. J. STAUDINGER, *Biochem. J.* **331**, 389 (1959).
14. T. NASH, *Biochem. J.* **55**, 416 (1953).
15. R. KATO and J. R. GILLETTE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **150**, 279 (1965).
16. O. H. LOWRY, N. J. ROSENBOUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL, *J. biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
17. D. S. DAVIES, P. GIGON and J. R. GILLETTE, *Fedn Proc.* **28**, 203 (1969).
18. D. S. DAVIES, *International Symposium on Drug Metabolism*, Skokloster, Sweden, June (1971) Abstracts.
19. J. R. GILLETTE, *FEBS Symposium*, Vol. 16, p. 109, Academic Press, London (1969).
20. R. KATO and K. ONODA, *Biochem. Pharmac.* **19**, 1649 (1970).
21. A. RANE, *Chem.-Biol. Interactions* **3**, 305 (1971).
22. H. A. O. HILL, A. RÖDER and R. J. P. WILLIAMS, *Naturwissenschaften* **57**, 69 (1970).

Zusammenfassung—Entalkylierung von Äthylmorphin und *p*-C-Hydroxylierung von Anilin in Lebermikrosomen vom Menschen und von männlichen und weiblichen Raten.

In Lebermikrosomen vom Menschen wurden die V_{\max} und scheinbaren K_m von Äthylmorphin (Typ I Differenzspektrum mit Mikrosomen) und Anilin (Typ II Differenzspektrum mit Mikrosomen) bestimmt und mit den an männlichen und weiblichen Wistar Ratten gewonnenen Werten verglichen. In Menschenlebermikrosomen betrugen die V_{\max} von Äthylmorphin und Anilin nur 20 bzw. 30% der maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten in männlichen Rattenlebermikrosomen. Die in Menschen und weiblichen Rattenlebermikrosomen errechneten V_{\max} zeigten keine signifikanten Unterschiede. Die scheinbare K_m von Äthylmorphin war in Lebermikrosomen vom Menschen ungefähr $20 \times$ größer als in der entsprechenden Rattenleberfraktion. Dagegen waren die scheinbaren K_m von Anilin in Lebermikrosomen von Mensch und Ratte in der gleichen Größenordnung. Die scheinbare K_m von Äthylmorphin betrug beim Menschen 6 mM und war damit 100 mal größer als die K_m von Anilin. Die in Lebermikrosomen von Menschen errechneten V_{\max} Werte ließen keine quantitative Korrelation zwischen metabolischer Kapazität und Cytochrom P-450 Gehalt erkennen.