

Aus der Beziehung $K_D = \text{Steigung} - 1/\text{Abstand auf der Ordinate}$ kann die Dissoziationskonstante, aus $y = 1/(1 + K_D/A)$ die Rezeptorbesetzung und aus $\epsilon_A/\epsilon_B = y_B/y_A$ können relative Wirkaktivitäten für die Verbindungen A und B berechnet werden^{4,5}.

Aus Tabelle I geht hervor, dass die untersuchten SP-Sequenzen am Ratten-Colon als Partialagonisten wirken. Am Meerschweinchen-Ileum, wo alle drei Peptide eine identische Maximalkontraktionshöhe erreichen, eine Differenzierung aus der Dosis-Wirkungs-Kurve also unmöglich ist, ergab die Ermittlung relativer Wirkaktivitäten jedoch Übereinstimmung mit den Ergebnissen am Ratten-Colon, d.h. erheblich geringere Werte für die SP-Sequenzen. Dieser Befund wäre durch das Vorhandensein einer grösseren Rezeptorreserve im Meerschweinchen-Ileum zu erklären. Tabelle II zeigt, dass der K_D -Wert in jedem Falle grösser als die ED_{50} und nur für die SP-Sequenzen mit der ED_{50} am Ratten-Colon vergleichbar ist.

C-terminale Pentapeptidsequenzen von Eledoisin und Substanz P, die sich nur durch eine Aminosäure unterscheiden, zeigen eine nahezu identische Wirkung^{11,13}. Die Verlängerung der Kette um eine Aminosäure bedingt erhebliche Zunahme der biologischen Aktivität. Bei identischer Wirkaktivität von SP-H und SP-P ist diese Zunahme und damit der Beitrag von Glutamin auf eine Affinitätssteigerung zurückzuführen. Die relative biologische Aktivität (Vergleich der ED_{50}) liegt damit auch im gleichen Bereich wie die relative Affinität (Vergleich der K_D -Werte).

Die Wirkungssteigerung durch Lysin in Position 6 des E-H gegenüber SP-P ist am Meerschweinchen-Ileum dagegen hauptsächlich durch Erhöhung der Wirkaktivität bedingt. Demzufolge findet sich auch keine Übereinstimmung zwischen relativer Aktivität (SP-P 3,5% der biologischen Aktivität des E-H) und relativer Affinität (61%). Die Bestimmung der relativen Aktivität durch Vergleich der ED_{50} lässt in solchen Fällen also nicht auf relative Affinitäten von Analogen schliessen.

Die fehlende Übereinstimmung zwischen ED_{50} am Ratten-Colon und K_D am Meerschweinchen-Ileum für E-H könnte ebenfalls mit höherer Wirkaktivität am Ratten-Colon gegenüber den SP-Sequenzen erklärt

werden. Da für Tachykinine gegenwärtig keine irreversiblen Antagonisten bekannt sind, ist es nicht möglich, durch Vergleich verschiedener Methoden den Beweis zu führen, dass Rezeptorblockade durch Agonisten selbst eine exakte Bestimmung der Dissoziationskonstanten erlaubt. Die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren jedoch, dass es auch bei Peptiden von ausserordentlicher Bedeutung ist, zwischen Affinität und Wirkaktivität zu differenzieren. Das ist auf der einen Seite für Untersuchungen des Wirkungsmechanismus wichtig, zum anderen kann die Aussage bei Struktur-Wirkungs-Analysen erheblich erweitert werden, indem der Beitrag einzelner Aminosäuren für die Gesamtwirkung einer Veränderung der Affinität, der Wirkaktivität oder beider Parameter zugeordnet werden kann. Diese ersten Befunde bedürfen noch einer weitergehenden Bestätigung an anderen Modellen¹⁴.

Summary. Isolated guinea-pig ileum was treated with various agonist concentrations, resulting in partial or complete receptor blockade. This situation is similar to that observed for treatment with irreversible inhibitors. Dissociation constants may be obtained, according to the theory of FURCHGOTT, if eledoisin- or substance P-sequences are added to the organ bath without removing the agonist. In this way the contributions of affinity and intrinsic activity can be dissociated.

J. BERGMANN, P. OEHME, M. BIENERT und
H. NIEDRICH¹⁴

*Bereich molekular- und zellbiologische Wirkstoffforschung
des Zentralinstituts für Molekularbiologie
der Akademie der Wissenschaften der DDR,
Wilhelmstrasse 4, DDR-1136 Berlin-Friedrichsfelde,
16. April 1974.*

¹³ P. OEHME, J. BERGMANN, H. G. MÜLLER, R. GRUPE, H. NIEDRICH, W.-E. VOGT, F. JUNG, *Acta biol. med. germ.* 28, 121 (1972).

¹⁴ Für die ausgezeichnete Assistenz sei den Mitarbeiterinnen M. EICHSTÄDT und M. RUDEL herzlich gedankt.

Die Wirkung von Silymarin-N-methylglucamin-Salz auf den mikrosomalen Gehalt von Cytochrom P450 der Rattenleber bei akuter Thioacetamidintoxikation

Die antihepatotoxische Wirkung von Silymarin (aus *Silybum marianum* (L.) Gaertn.) bei der akuten Thioacetamidintoxikation der Ratte ist sowohl durch Normalisierung erhöhter leberspezifischer Enzymaktivitäten des Serums¹ als auch durch therapeutische Beeinflussung von Regulationsstörungen des Lipidstoffwechsels² nachgewiesen. Charakteristisch für die Intoxikation mit Thioacetamid³ oder mit anderen Hepatotoxika wie Tetrachlorkohlenstoff⁴ oder Galaktosamin⁵ ist die Abnahme des mikrosomalen Gehalts von Cytochrom P450, bedingt durch eine frühzeitige Schädigung der Struktur und Funktion des endoplasmatischen Reticulums der Leberzelle. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die Wirkung von Silymarin-N-methylglucamin-Salz, eines mässig wasserlöslichen Derivates von Silymarin, auf die durch Thioacetamid verursachte Veränderung des mikrosomalen Cytochrom P450-Gehalts untersucht.

60 min vor i.p. Applikation von 300 mg Thioacetamid/kg KG an ca. 200 g schwere, männliche Ratten wurden einem Teil der Tiere (Versuchskollektiv) 400 mg Silymarin-N-methylglucamin-Salz/kg KG in 4%ig. Polyvinylpyrrolidonlösung i.p. verabreicht. Ein weiterer Teil der Tiere (Kontrollkollektiv) sowie ein unvergiftetes Basis-kollektiv erhielten gleiche Volumina der Solventien. 24 h nach Verabreichung des Toxikons wurden die Tiere getötet,

¹ H. SCHRIEWER, R. BADDE, G. ROTH und H. M. RAUEN, *Arzneimittel-Forsch.* 23, 160 (1973).

² H. SCHRIEWER, J. LOHMANN und H. M. RAUEN, in Vorbereitung.

³ E. A. BARKER und E. A. SMUCKLER, *Molec. Pharmac.* 8, 318 (1972).

⁴ N. HENI, *Experientia* 27, 293 (1971).

⁵ H. GALLenkAMP, D. BRACHTEL und E. RICHTER, *Acta hepato gastroenterol.* 21, 101 (1974).

die Mikrosomen der so rasch wie möglich entnommenen Lebern nach vorheriger Perfusion mit 0,9%ig. Kochsalzlösung gewonnen⁶ und der mikrosomale Gehalt an Cytochrom P450 bestimmt⁷.

Wie die Tabelle zeigt, nimmt die Konzentration von Cytochrom P450 bei Thioacetamid-vergifteten Tieren im Vergleich zu unvergifteten deutlich ab. Nach prophylaktischer Silymarinapplikation ist eine statistisch signifikante Normalisierung der verminderten Messgrösse nachweisbar ($2\alpha < 0.01$).

Die vorliegenden Untersuchungen berücksichtigen nicht, inwieweit das Lösungsmittel Polyvinylpyrrolidon den mikrosomalen Gehalt an Cytochrom P450 beeinflusst. Da jedoch alle untersuchten Gruppen in gleicher Weise mit Polyvinylpyrrolidon behandelt wurden, ist eine evtl.

zusätzliche Wirkung dieser Substanz – der Cytochrom P450-Gehalt der Basisgruppe beträgt etwa $\frac{2}{3}$ der Norm – auf die untersuchte Messgrösse für die Versuchsaussage unerheblich. Auffälligerweise ist die Streuung der Messwerte des Thioacetamid-vergifteten Kontrollkollektivs im Vergleich zum Basiskollektiv sowie zu den mit Silymarin behandelten Versuchstieren deutlich geringer, ohne dass hierfür eine Erklärung gegeben werden kann. Bei Anwendung eines parameterfreien Signifikanztests wie des Rangsummentests nach Wilcoxon ist die unterschiedliche Varianz der untersuchten Gruppen jedoch ohne Einfluss auf die statistische Sicherung der Messergebnisse.

Summary. 24 h after Thioacetamide application (300 mg/kg body weight) on rats, microsomale Cytochrome P450 content is diminished about 40%. Prophylactic i.p. application of 400 mg Silymarine-N-methylglucamine salt, dissolved in 4% Polyvinylpyrrolidone solution, given 1 h before application of Thioacetamide, counteracts this diminution.

Die Wirkung von Silymarin-N-methylglucamin-Salz auf den mikrosomalen Gehalt von Cytochrom P450 der Rattenleber bei akuter Thioacetamidintoxikation (Mittelwerte \pm Standardabweichungen)

nMol Cytochrom P450/ mg mikrosomales Protein

B	0,42 \pm 0,13
K	0,25 \pm 0,01 \downarrow
V	0,37 \pm 0,10 *

B, unvergiftetes Basiskollektiv, $n = 10$; K, Thioacetamid-vergiftetes Kontrollkollektiv, $n = 10$; V, Thioacetamid-vergiftetes, mit Silymarin-N-methylglucamin-Salz vorbehandeltes Versuchskollektiv, $n = 9$ (Einzelheiten s. Text). Statistisch signifikante Unterschiede im Rangsummentest nach Wilcoxon: Kontrollkollektiv-Basiskollektiv: \downarrow , $2\alpha < 0,01$; Versuchskollektiv-Kontrollkollektiv: *, $2\alpha < 0,01$.

J. LOHMANN, H. SCHRIEWER und H. M. RAUEN

Abteilung für Experimentelle Zellforschung,
Physiologisch-Chemisches Institut der Westfälischen
Wilhelms-Universität, Waldeyerstr. 15,
D-44 Münster/Westfalen (BRD), 27. Juni 1974.

⁶ J. L. GLENN und W. AUSTIN, Biochim. biophys. Acta 231, 153 (1971).

⁷ B. SCHOENE, R. A. FLEISCHMANN, H. REMMER und H. F. v. OLDERSHAUSEN, Eur. J. clin. Pharmac. 4, 65 (1972).

Dopamine Receptor Blockade by Neuroleptic Drugs in Aplysia Neurones

Dopamine receptor blockade has been suggested as an important mechanism of action of antipsychotic drugs¹. The evidence for this mechanism includes the occurrence of 'parkinsonian' side effects in patients during therapy with neuroleptic drugs²⁻⁵. In animal experiments, neuroleptic drugs can reverse stereotyped behavior induced by apomorphine and amphetamine^{6,7}. Phenothiazines and butyrophenones enhance dopamine metabolism, probably as a consequence of a blockade of dopamine receptors in the brain⁸⁻¹⁴. Such blockade has recently been demonstrated in vitro using dopamine-sensitive adenylyl cyclase from rat corpus striatum^{15,16} and from calf retina¹⁷ as a receptor system. The blockade of dopamine receptors by antipsychotic drugs has also been suggested by their conformational similarities with dopamine¹⁸.

Neurophysiological results are consistent with the interpretation that the mechanism of neuroleptic action is by dopamine receptor blockade, but direct evidence is scarce. Depression of excitatory responses in the caudate nucleus by haloperidol¹⁹ and antagonism between the action of dopamine and chlorpromazine in striatal neurones have been obtained²⁰, but local anesthetic effects could not be ruled out completely. Chlorpromazine interferes with the apomorphine effect in nucleus solitarius neurones²¹. Antipsychotic phenothiazines and haloperidol inhibit the depression of the spontaneous firing rate of mesencephalic dopaminergic neurones

¹ S. MATTHYSSE, Fedn Proc. 32, 200 (1973).

² J. O. COLE and D. J. CLYDE, Revue can. Biol. 20, 565 (1961).

³ F. J. AYD, J. Am. med. Ass. 175, 1054 (1961).

⁴ H. J. HAASE and P. A. J. JANSSEN, The Action of Neuroleptic Drugs (North Holland Publishing Company, Amsterdam 1965).

⁵ O. HORNYKIEWICZ, Pharmac. Rev. 18, 925 (1966).

⁶ P. A. J. JANSSEN, C. J. C. NIEMEGERE, K. H. L. SCHELLEKENS and F. M. LENAERTS, Arzneimitt. Forsch. 17, 841 (1967).

⁷ L. LEMBERGER, E. D. WITT, J. M. DAVIS and I. J. KOPIN, J. Pharmac. exp. Ther. 174, 428 (1970).

⁸ A. CARLSSON and M. LINDQVIST, Acta pharm. int. 20, 140 (1963).

⁹ N.-E. ANDÉN, S. G. BUTCHER, H. CORRODI, K. FUXE and U. UNGERSTEDT, Eur. J. Pharmac. 11, 303 (1970).

¹⁰ M. DA PRADA and A. PLETSCHER, Experientia 22, 465 (1966).

¹¹ K. F. GEY and A. PLETSCHER, Experientia 24, 335 (1968).

¹² H. NYBÄCK, Z. BORZECKI and G. SEDVALL, Eur. J. Pharmac. 4, 395 (1968).

¹³ R. O'KEEFE, D. F. SHARMAN and M. VOGT, Br. J. Pharmac. 38, 287 (1970).

¹⁴ M. J. BESSON, A. CHERAMY and J. GLOWINSKI, J. Pharmac. exp. Ther. 177, 196 (1971).

¹⁵ J. W. KEBABIAN, G. L. PETZOLD and P. GREENGARD, Proc. natn. Acad. Sci., USA 69, 2145 (1972).

¹⁶ M. KAROBATH and H. LEITICH, Proc. natn. Acad. Sci., USA, 71, 2915 (1974).

¹⁷ J. H. BROWN and M. H. MAKMAN, J. Neurochem. 21, 477 (1973).

¹⁸ A. S. HORN and S. H. SNYDER, Proc. natn. Acad. Sci., USA 70, 2325 (1971).

¹⁹ P. FELTZ, Eur. J. Pharmac. 14, 360 (1971).

²⁰ D. H. YORK, Brain Res. 37, 91 (1972).

²¹ S. TAKAORI, N. FUKUDA and Y. AMANO, Japan. J. Pharmac. 20, 424 (1970).