

*Pharmakologisches Institut der Universität Hamburg*

## **Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte der Maus und deren Beeinflussung durch Äthanol und Aminophenazon sowie Phenobarbitalvorbehandlung der Versuchstiere**

*A. Finke und G. Czok*

Mit 9 Abbildungen

(Eingegangen am 3. Juni 1980)

Als Inhaltsstoff von Kaffee, Tee, Guarana, Mate und Colanüssen ist Coffein weltweit bekannt. Coffein findet wegen seiner zentral stimulierenden Wirkung in unterschiedlichsten, wohlschmeckenden Getränken Verwendung. Darüber hinaus ist Coffein in verschiedenen Arzneimitteln enthalten, um Nebeneffekte anderer Substanzen, beispielsweise solche mit einer sedierenden Wirkung wie im Falle der Antihistaminika zu antagonisieren. In zahlreichen Analgetika vermag Coffein die analgetische Wirkung zu steigern, wie dies *Weigmann* und *Fleming* 1953 in klinischen Versuchen mit Kombinationen von Coffein und Acidum Acetylosalicylicum sowie Coffein und Aminophenazon nachweisen konnten. *Vinegar* et al. 1976 haben weiterhin in Untersuchungen an Ratten eine Potenzierung des entzündungshemmenden und analgetischen Effektes immer dann beobachtet, wenn Aspirin zusammen mit Coffein verabreicht wurde.

Da das Coffein nicht nur als Arzneimittel, sondern auch im täglichen Leben als Genußmittel eine große Rolle spielt, dürfen auch Wechselwirkungen mit einem anderen sehr wichtigen Genußmittel, dem Alkohol, von Bedeutung sein. Dabei ist zu erwarten, daß beide Substanzen sich in ihrem pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Verhalten beeinflussen werden.

Die Pharmakokinetik des Äthanols ist hinsichtlich seiner Beeinflussung durch Coffein in einigen Untersuchungen am Menschen und Tier geprüft worden. Hier stand das verkehrsmedizinische Interesse hinsichtlich der Fahrtüchtigkeit im Vordergrund. So fanden *Elbel* 1939, *Fleming* und *Reynolds* 1935, *Lang* und *Schlick* 1936 sowie *Pawan* 1968 keine Beeinflussung des Blutalkohols durch vorherige Gabe von Coffein oder von Kaffee.

Bei den Versuchen der Äthanolresorption sahen dagegen *Grüner* und *Federlein* 1965 anfänglich erhöhte Blutalkoholwerte, die von diesen Autoren auf Flüssigkeitsverschiebungen zwischen Blut und Gewebe zurückgeführt wurden. *Strubelt* et al. 1973 sowie *Siegers* et al. 1972 beobachteten an Ratten, die Coffein und Äthanol gleichzeitig mittels Schlundsonde erhalten hatten, eine verzögerte Magenentleerung und damit zusammenhängend eine verlangsamte Äthanolresorption, die zu erniedrigten Blutalko-

holwerten führte. Ein derartiger Effekt konnte am Menschen nicht nachgewiesen werden.

Eine weitere wichtige Frage, ob und in welcher Weise Äthanol den Stoffwechsel von Coffein zu beeinflussen vermag, ist unseres Wissens bislang noch nicht untersucht worden.

In vorangegangenen, an Mäusen vorgenommenen In-vivo-Versuchen war nach oraler Verabreichung von Äthanol 1,8 g/kg und gleichzeitiger Coffeinzufuhr eine deutlich verlängerte Halbwertszeit des Coffeins im Plasma sowie eine erhebliche Zunahme von nicht metabolisiertem Coffein, insbesondere in Leber und Niere nachzuweisen. Aus diesen Befunden wurde geschlossen, daß Äthanol den Abbau von Coffein im Organismus zu hemmen vermag (M. Hartmann 1980).

In Ergänzung und Erweiterung dieser Versuche wurden jetzt Untersuchungen an Leberschnitten der Maus durchgeführt. Hierdurch sollte geklärt werden, ob Äthanol auch bei diesen In-vitro-Untersuchungen den Coffeinstoffwechsel zu hemmen vermag. Weiterhin sollte geprüft werden, ob Aminophenazon, das gleich dem Coffein in der Leber demethyliert wird, den Abbau von Coffein zu hemmen vermag und ob eine durch Phenobarbitalvorbehandlung hervorgerufene Enzyminduktion der Leber zu einem erhöhten Coffeinumsatz führen kann. Darüber hinaus sollte durch diese Untersuchungen festgestellt werden, ob die Metabolisierung von Coffein sich ausschließlich auf die Leber beschränkt oder möglicherweise auch in anderen Organen wie etwa Niere oder Gehirn erfolgt. Vergleichende Untersuchungen, die an Leberschnitten von Maus und Ratte durchgeführt wurden, sollten schließlich abklären, ob beim Abbau von Coffein Speziesunterschiede eine Rolle spielen.

### Methodik

Für die in vitro durchgeführten Versuche wurden die Organe Leber, Niere und Gehirn von männlichen Mäusen des Stammes NMRI verwendet. In einem Falle wurde die Leber von Ratten des Stammes Wistar orientierend überprüft. Die Organschnitte wurden mit einem Mikrotom hergestellt, das dem von Stadie und Riggs (1944) sehr ähnlich war. Die hergestellten Organschnitte wurden einige Minuten lang bis zur Inkubation in einer gekühlten, mit Carbogen vorbegebenen Glucose-Ringerlösung aufbewahrt. Dann wurden die Organschnitte in ein coffeinhaltiges Medium mit bzw. ohne Zusatz von Äthanol oder Aminophenazon gegeben. Die Metabolisierung von Coffein konnte durch Verwendung von  $^{14}\text{C}$ -markiertem Coffein in einem bestimmten Mengenverhältnis zu nichtmarkiertem Coffein durch dünnenschichtchromatographische Trennung und anschließende Messung der  $^{14}\text{C}$  markierten Peaks von Coffein und seinen Metaboliten mit einem DC-Scanner bestimmt werden. Der Rf-Wert des Coffeins lag bei etwa 0,79 und 0,81, während die Rf-Werte der Coffeinmetaboliten wesentlich niedrigere Rf-Werte höchstens bis zu 0,50 aufwiesen. Die Metabolisierungsrate des Coffeins wurde für die Organschnitte und das Medium getrennt ermittelt und daraus die Gesamtmetabolisierungsrate in n mol pro 60 Minuten und Gramm Leber Feuchtgewicht errechnet.

Der Einfluß von Äthanol und Aminophenazon auf den Coffeinabbau wurde in drei arithmetisch steigenden Konzentrationen untersucht.

### Statistik

Mit den in den einzelnen Versuchsreihen erhaltenen Meßergebnissen wurde eine einfache Varianzanalyse und ein Vergleich nach dem t-Test von Student

vorgenommen. Der Unterschied zweier Mittelwerte wurde dann als gesichert angesehen, wenn die aus dem t-Test sich ergebende Irrtumswahrscheinlichkeit (P) einen Wert  $\leq 0,05$  ergab. Fischer, R. A. (1956).

## Ergebnisse

### 1. Coffeinmetabolisierung durch Leberschnitte von Mäusen in der Abhängigkeit von der Zeit

Die aus diesen Versuchsreihen errechneten Mittelwerte und ihre Streuungen sind in der Abbildung 1 graphisch dargestellt. Hiernach ergibt sich in Abhängigkeit von der Zeit bis zu einer Versuchsdauer von 60 Minuten eine annähernd lineare Zunahme der Metabolisierungsrate durch Leberschnitte der Maus, wobei jeweils zwischen zwei erhaltenen Mittelwerten ein hoch signifikanter Unterschied  $P < 0,001$  nachzuweisen ist.

Für alle folgenden Versuche wurde eine konstante Inkubationszeit von 60 Minuten gewählt.

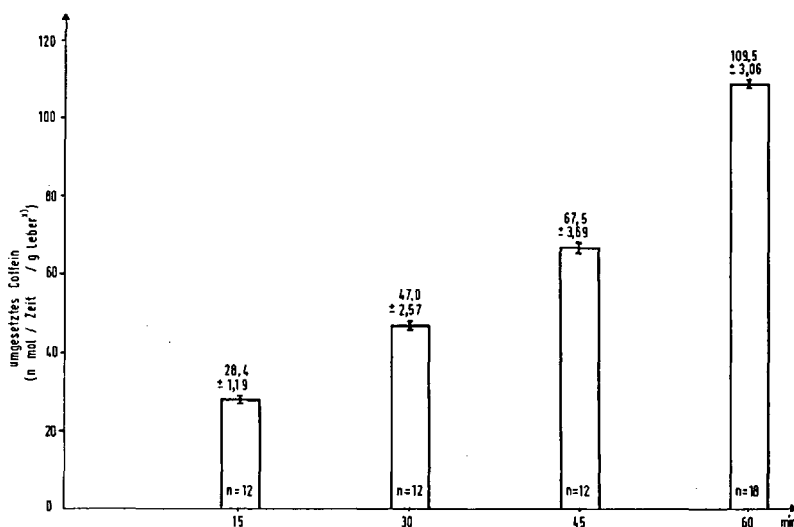


Abb. 1. Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte von Mäusen in der Abhängigkeit von der Zeit, dargestellt sind Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und seine mittlere Streuung ( $s_{\bar{x}}$ ).

### 2. Einfluß von Äthanol auf die Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte der Maus

Die dem Medium zugesetzten Äthanolkonzentrationen betrugen dabei 23,36 mM, 46,72 mM und 93,44 mM, entsprechend 0,1, 0,2 und 0,4‰.

Die Abbildung 2 zeigt die Mittelwerte und deren mittlere Streuung des Coffeinumsatzes in n mol pro 60 min und g Leber Feuchtgewicht für die Kontrollen und die drei getesteten Äthanolversuchsreihen. Hiernach hat Äthanol ganz offenbar einen hemmenden Einfluß auf den Coffeinumsatz durch Leberschnitte, wobei auch eine deutliche Dosisabhängigkeit dieses Effektes von der Äthanolkonzentration festzustellen ist.

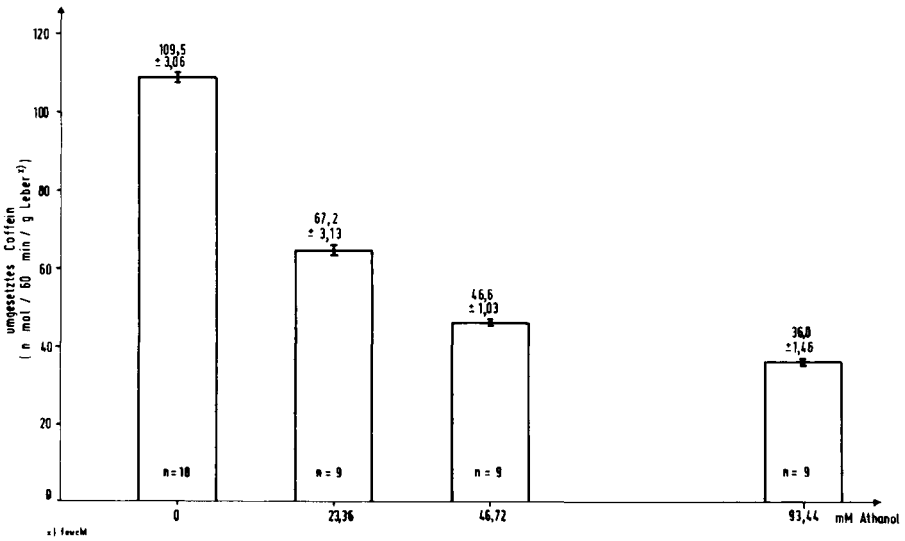


Abb. 2. Einfluß von Äthanol auf die Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte von Mäusen, dargestellt sind Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und seine mittlere Streuung ( $s_{\bar{x}}$ ).

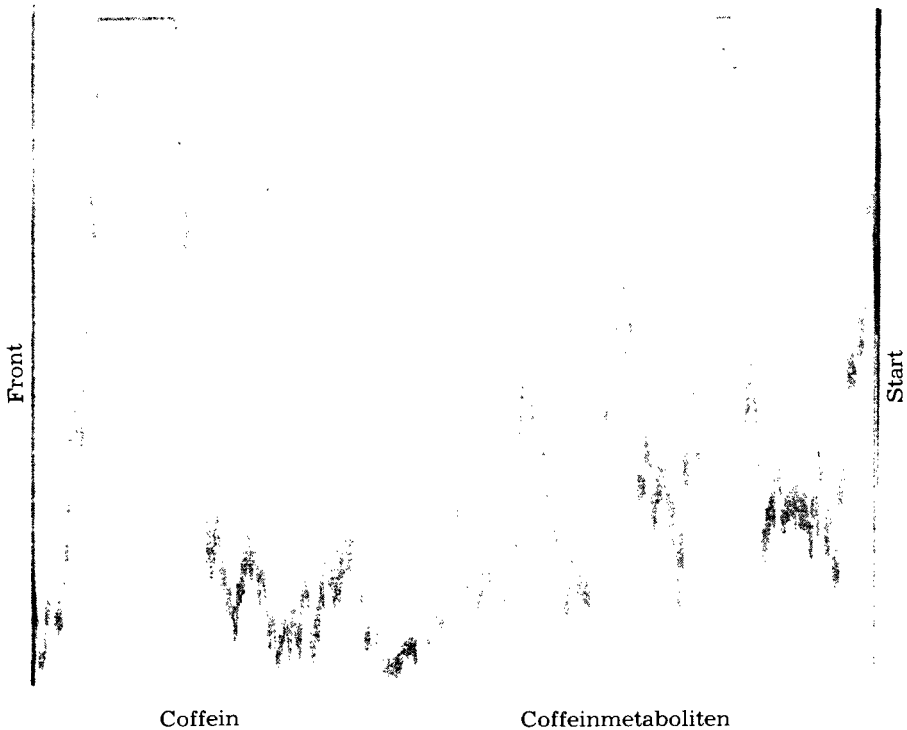


Abb. 3. Coffeinmetabolisierung durch Leberschnitte der Maus, Coffeinkonzentration im Medium 61,79  $\mu$ M.

Verglichen mit den Kontrollversuchen verringerte sich der Umsatz von Coffein bei den Äthanolkonzentrationen von 0,1% um 38,6 %, von 0,2% um 45,4 %, von 0,4% um 67,1 %. Die Unterschiede der Mittelwerte zwischen der Kontrolle und den Alkoholversuchsreihen sowie auch die Unterschiede der einzelnen Versuchsreihen erwiesen sich bei der statistischen Auswertung als signifikant  $P < 0,05$  bzw.  $P < 0,001$ .

Die Abbildungen 3 und 4 zeigen typische Radio-Chromatogramme, die nach dünnschichtchromatographischer Trennung des Inkubationsmediums mit und ohne Alkoholzusatz erhalten wurden. Während das Medium ohne Alkoholzusatz verhältnismäßig hohe Coffeinmetaboliten im unteren Drittel des Radio-Chromatogramms und einen deutlich kleineren Coffeinpeak aufweist, ist unter dem Einfluß von Äthanol einmal eine erhebliche Verkleinerung der Coffeinmetaboliten, zum anderen eine deutliche Zunahme des Coffeinpeaks festzustellen.

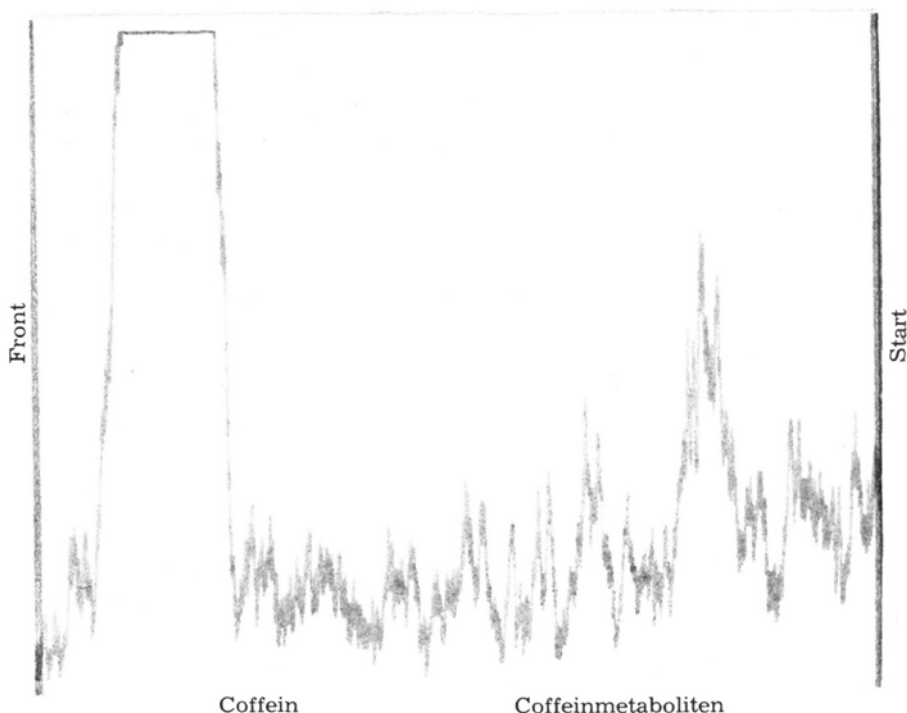


Abb. 4. Beeinflussung der Coffeinmetabolisierung durch Alkoholzusatz, Coffeinkonzentration im Medium  $61,79 \mu\text{M}$ , Äthanolkonzentration  $46,72 \text{ mM}$ .

### 3. Einfluß von Aminophenazon auf die Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte der Maus

Aminophenazon wurde dem Inkubationsmedium in den Konzentrationen  $10,4 \mu\text{M}$ ,  $20,8 \mu\text{M}$ , und  $104,0 \mu\text{M}$  zugesetzt. Nach diesen in Abbildung 5 dargestellten Untersuchungsergebnissen kommt es unter dem Einfluß

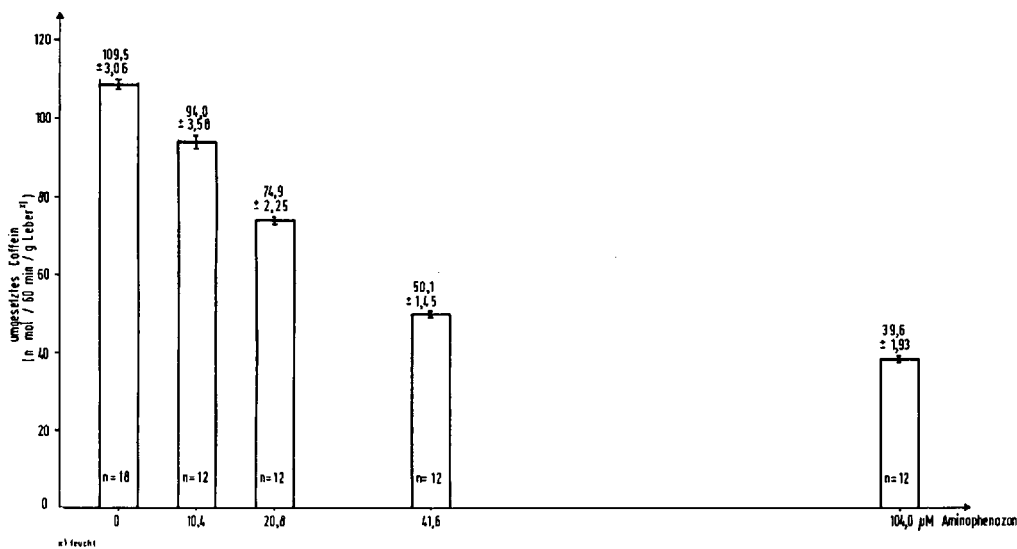


Abb. 5. Einfluß von Aminophenazon auf die Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte von Mäusen, dargestellt sind Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und seine mittlere Streuung ( $s_{\bar{x}}$ ).

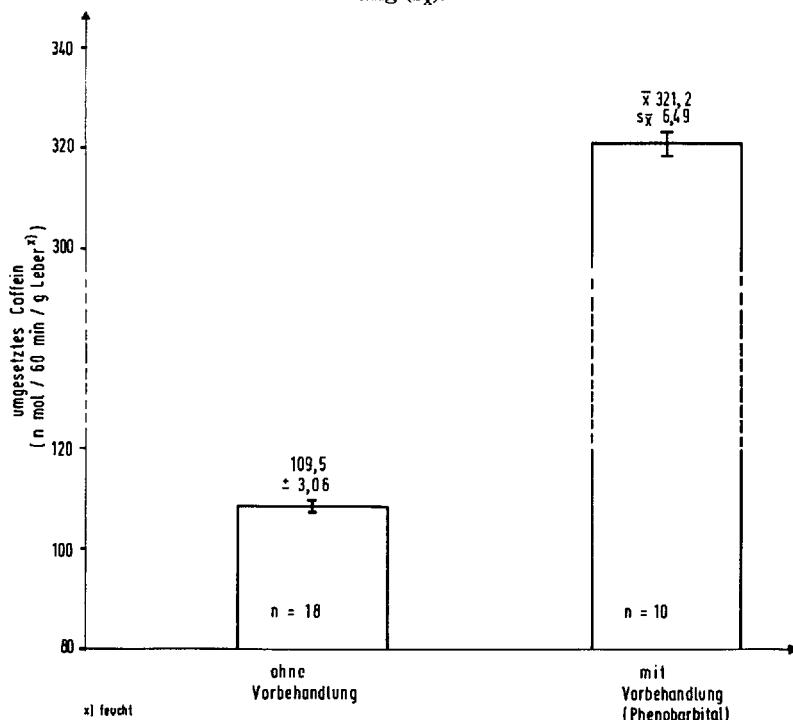


Abb. 6. Einfluß einer Vorbehandlung von Mäusen mit Phenobarbital (75 mg pro kg p.o. an 4 aufeinanderfolgenden Tagen) auf die Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte.

von Aminophenazon zu einer Hemmung des Coffeinumsatzes von Leberschnitten, wobei sich dieser Effekt mit zunehmender Aminophenazonkonzentration im Inkubationsmedium zunehmend verstärkt. Der Umsatz von Coffein wurde gegenüber der Kontrolle bei einer Konzentration von  $10,4 \mu\text{M}$  um 14,2 %, von  $20,8 \mu\text{M}$  um 31,6 %, von  $41,6 \mu\text{M}$  um 54,2 % und von  $104,0 \mu\text{M}$  um 63,8 % vermindert. Die statistische Auswertung zeigte hoch signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Versuchsreihen  $P < 0,05$  bzw.  $P < 0,001$ .

#### 4. Einfluß einer Vorbehandlung von Mäusen mit Phenobarbital auf die Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte der Maus

In diesen Versuchen wurden die Leberschnitte von Mäusen untersucht, die Phenobarbital 75 mg/kg an 4 aufeinanderfolgenden Tagen per os erhalten hatten. Wie aus der Abbildung 6 zu ersehen ist, wird die Coffeinmetabolisierung der Leberschnitte durch eine Vorbehandlung der Versuchstiere mit Phenobarbital beträchtlich gesteigert und hat gegenüber der Kontrolle auf das Dreifache zugenommen.

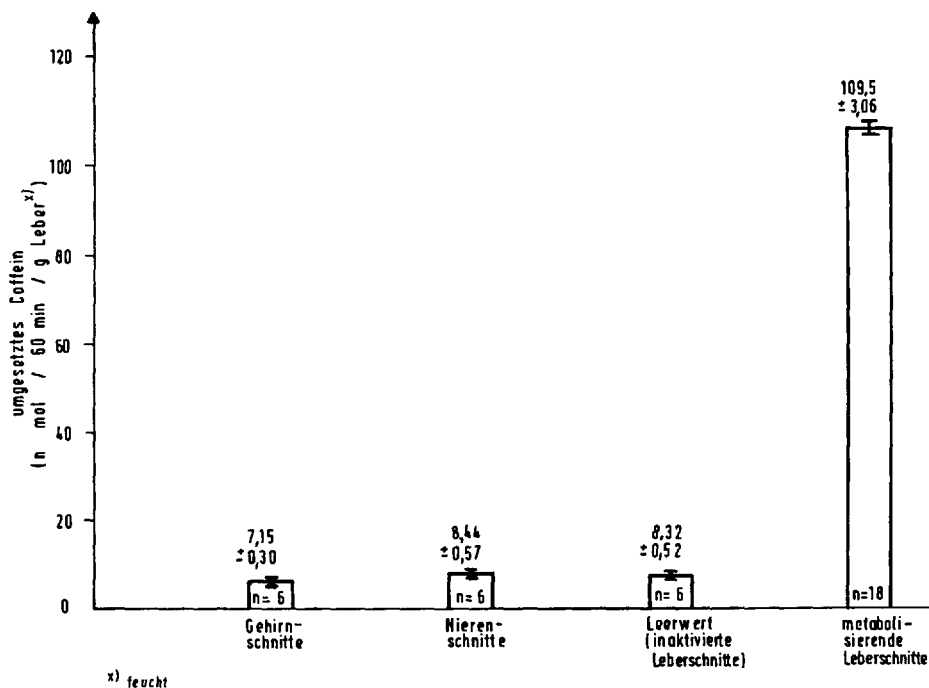


Abb. 7. Keine reelle Metabolisierung von Coffein durch Gehirn- und Nierenschnitte der Maus bei Vergleich des Coffeinumsatzes durch inaktivierte (gekochte) Mäuselberschnitte sowie eine Gegenüberstellung der Metabolisierungsrate durch funktionstüchtige Leberschnitte der Maus des Kontrollversuchs, dargestellt sind Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und seine mittlere Streuung ( $s_x$ ).

### 5. Überprüfung von Gehirn- und Nierenschnitten auf eine Metabolisierung

In diesen Versuchen (Abb. 7) zeigten Gehirn- und Nierenschnitte der Maus eine sehr niedrige Metabolisierungsrate von Coffein. Da eine entsprechend niedrige Metabolisierungsrate auch mit inaktivierten (gekochten) Leberschnitten gefunden wurde, kann man davon ausgehen, daß es sich bei Gehirn- und Nierenschnitten um eine scheinbare Metabolisierung von Coffein im Bereich des methodischen Fehlers von 6 bis 7 % handelt. In Gehirn- und Nierenschnitten der Maus ist somit kein nennenswerter Coffeinumsatz nachzuweisen.

### 6. Vergleich der Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte von Mäusen und Ratten

Wie aus den Versuchsergebnissen (Abb. 8) zu entnehmen ist, vermag die Mäuseleber Coffein in erheblich größerem Umfang zu metabolisieren als die Rattenleber. So war die Metabolisierungsrate durch Leberschnitte von Coffein nach einstündiger Inkubationsdauer bei der Maus mehr als doppelt so hoch wie bei der Ratte. Somit scheint die Maus für Metabolisierungsstudien von Coffein als Versuchstier sehr zweckmäßig und auch geeigneter als die Ratte zu sein.

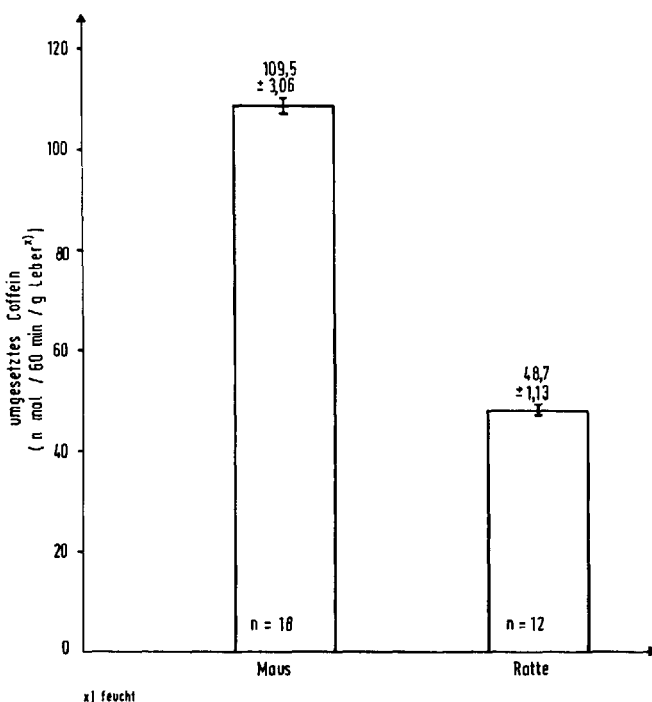


Abb. 8. Metabolisierung von Coffein durch Leberschnitte von Mäusen und Ratten, dargestellt sind Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und seine mittlere Streuung ( $s_x$ ).



## Diskussion

Coffein wird bei Mensch und Tier sehr rasch im Organismus umgesetzt und zum größten Teil in metabolisierter Form über den Harn ausgeschieden. So wurde die Plasmahalbwertszeit des Coffeins für den Menschen mit 3,5 Std., für den Hund mit 5 Std. (Axelrod und Reichenthal 1953), für die Ratte mit 2,5 bis 3 Std. (Czok et al. 1969) und für die Maus bei Coffeingaben von 5, 18, 25 mg/kg mit 0,6, 1,15 bzw. 1,75 Std. ermittelt (Burg und Werner 1972 und Hartmann 1980). Nach Coffeinzufuhr beträgt die im Harn ausgeschiedene Menge an unverändert ausgeschiedenem Coffein bei Menschen weniger als 2% (Cornish und Christmann 1957), bei der Ratte 4 bis 9% (Khanna et al. 1972) und bei der Maus 3 bis 6% (Burg und Werner 1972).

Der Abbau von Coffein soll in der Leber unter Vermittlung des Cytochrom P-450-Monooxygenase-Systems erfolgen. Die wichtigsten dabei beteiligten Reaktionen sind einmal N-Demethylierungen, wodurch Coffein in Theophyllin (1-3-Dimethylxanthin), Theobromin (3-7-Dimethylxanthin) oder Paraxanthin (3-7-Dimethylxanthin) umgewandelt werden kann. Zum anderen können durch oxydative Reaktionen aus Coffein 1-3-7-Trimethylharnsäure und 1-3-7-Trimethyldihydroharnsäure gebildet werden. Aus den 1-3- bzw. 1-7-Dimethylxanthinen kann außerdem 1-3-Dimethylharnsäure bzw. 1-7-Dimethylharnsäure entstehen. 1-3-7-Trimethylharnsäure kann weiterhin bei bestimmter Tierspezies wie z. B. bei Ratte und Maus durch das hier vorhandene Enzym Uricase unter Ringspaltung in 1-3-8-Trimethylallantoin umgewandelt werden. Aus dieser Verbindung können dann durch weiteren Abbau Monomethylharnstoff bzw. Dimethylharnstoff entstehen. Die Abbildung 9 zeigt ein Schema des Abbaus von Coffein, das aufgrund neuer Untersuchungen die Verhältnisse bei Ratte und Maus wiedergibt.

Wie aus den hier vorgelegten Untersuchungsergebnissen hervorgeht, vermögen Leberschnitte der Maus Coffein rasch zu metabolisieren. Der Abbau von Coffein erfolgt bei einer Inkubationsdauer bis zu 60 min annähernd linear, wobei dann etwa 100 nmol Coffein/g Leber Feuchtge-

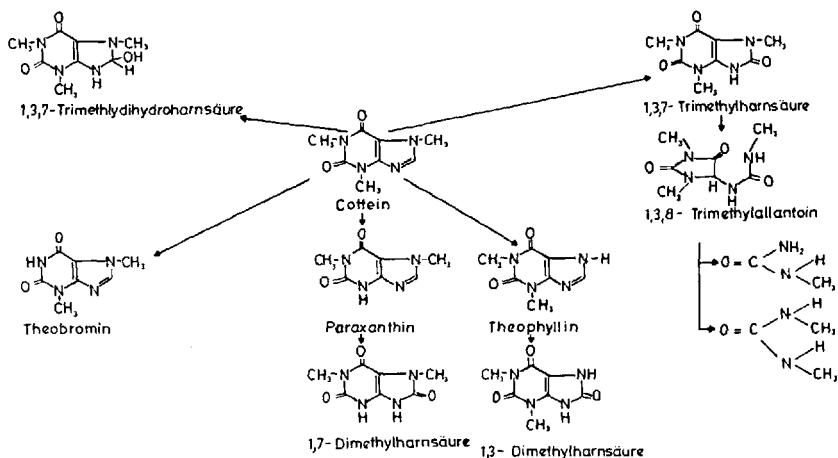


Abb. 9. Stoffwechsel von Coffein (Ratte, Maus), Arnaud, M. J. (1976).

wicht umgesetzt werden. Da über 60 min hinausgehende Inkubationszeiten den Coffeinumsatz nur noch unwesentlich, keinesfalls aber linear zeitabhängig zu steigern vermögen, wurde für alle weiteren Versuche eine einheitliche Inkubationsdauer von 60 min gewählt.

Da beim Abbau von Coffein neben Oxidationsvorgängen hauptsächlich N-Demethylierungen eine wichtige Rolle spielen, sollte ein inhibitorischer Effekt auf den Coffeinmetabolismus dann zu erwarten sein, wenn Arzneistoffe die N-Demethylierung hemmen. Nach Untersuchungen von K. Soehring und R. Schüppel 1966 sowie R. Schüppel 1969 entfaltet Äthanol eine solche Wirkung und vermag die Demethylierung von Aminophenazon zu hemmen. Dieser Hemmeffekt verstärkt sich mit zunehmender Äthanolkonzentration und betrug bei der höchsten angewendeten Alkoholkonzentration von 93,44 mM 67,1 %. Dabei war es nicht überraschend, daß Äthanol in den hier durchgeführten Untersuchungen auf den Abbau von Coffein und die dabei ablaufende Demethylierung einen hemmenden Einfluß hatte.

Da der Abbau von Aminophenazon ebenfalls über eine N-Demethylierung in der Leber erfolgt, wurde weiterhin geprüft, ob bei gleichzeitigem Angebot von Coffein und Aminophenazon an Leberschnitte möglicherweise diese beiden Substanzen bei der dann erfolgenden N-Demethylierung miteinander konkurrieren und dabei eine Hemmung des Coffeinabbaus auftritt. Dieser Hemmeffekt verstärkte sich mit zunehmender Dosis von Aminophenazon und führte bei einer Konzentration von 104  $\mu$ M Aminophenazon zu einer 63,8 %igen Hemmung.

Da das arzneimittelabbauende Cytochrom P-450-Monooxygenase-System der Leber bekanntlich durch Phenobarbital stimuliert werden kann, wurde außerdem geprüft, ob Leberschnitte der Maus, die mit Phenobarbital vorbehandelt wurden (an vier aufeinanderfolgenden Tagen 75 mg/kg p. o.) Coffein schneller zu metabolisieren vermögen. Ein solcher Effekt konnte in diesen Versuchen festgestellt werden. Der Coffeinumsatz stieg nach Phenobarbitalvorbehandlung auf über das Dreifache derjenigen Werte an, welche in den Kontrollversuchen erhalten wurden.

Von besonderem Interesse sind die an Gehirn- und Nierenschnitten der Maus vorgenommenen Untersuchungen, aus denen zu schließen ist, daß diese Organe offenbar nicht im Stande sind, Coffein zu metabolisieren. Die bei In-vivo-Versuchen, d.h. beim Ganztier in Gehirn und Niere oder auch in anderen Organen nachweisbaren Coffeinmetaboliten entstammen somit letztlich der Leber und werden offenbar erst über den Blutweg in die anderen Organe transportiert. Die starke Anreicherung von Coffeinmetaboliten in der Niere, die unter In-vivo-Bedingungen feststellbar ist, kommt offenbar dadurch zustande, daß diese Substanzen mit dem Blut sehr rasch zur Niere gelangen. Ihr Übertritt in den Harn dürfte aber wegen der gleichzeitig in den Harnkanälchen ablaufenden Rückresorptionsvorgängen erst mit einer gewissen Verzögerung erfolgen.

Ein weiterer wichtiger Befund, der in diesen Untersuchungen erhoben werden konnte, ist der, wonach bei der Metabolisierung von Coffein offenbar erhebliche Speziesunterschiede bestehen können. So metabolisierten die Mäuseleberschnitte innerhalb von 60 min/g Leber Feuchtgewicht 109,5 nmol Coffein, während die Leberschnitte der Ratte unter gleichen Versuchsbedingungen nur 48,7 nmol Coffein, d. h., also nur die

Hälfte umsetzten. Mit diesen Befunden stimmen auch die in vivo gemessenen Plasmahalbwertszeiten von Coffein gut überein, die bei der Ratte einen doppelt so hohen Wert ergaben wie bei der Maus (1,15 Std.).

### *Zusammenfassung*

Der Einfluß von Äthanol, Aminophenazon und Phenobarbital auf den Coffeinstoffwechsel wurde an Mäuseleberschnitten unter Verwendung von 1-Methyl-<sup>14</sup>C-Coffein als Markersubstanz untersucht.

In diesen Untersuchungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. Der Coffeinstoffwechsel erhöhte sich bei Verlängerung der Inkubationsdauer. Während 60 min nahm der Coffeinumsatz annähernd linear zu, und in dieser Zeit wurden 109,5 nM Coffein pro Gramm Leber Feuchtgewicht umgesetzt.
2. Äthanol verminderte den Coffeinstoffwechsel von Mäuseleberschnitten. Nach Äthanolkonzentrationen von 23,36, 46,72 und 93,44 mM war eine deutliche und dosisabhängige Hemmung des Coffeinumsatzes festzustellen, wobei ein maximaler Hemmeffekt von 67,1% auftrat.
3. Aminophenazon verminderte ebenfalls den Stoffwechsel von Coffein. Dieser Effekt wurde durch steigende Aminophenazonkonzentrationen (10,4, 20,8, 41,6 und 104,0 µM) verstärkt, und ein maximaler Hemmeffekt von 63,8% ergab sich nach der höchsten Konzentration von Aminophenazon.
4. Vorbehandlung von Mäusen mit Phenobarbital bewirkte über die dadurch ausgelöste Enzyminduktion in der Leber eine deutliche Erhöhung des Coffeinumsatzes von Mäuseleberschnitten. Unter diesen Bedingungen wurde der Coffeinumsatz um mehr als 300% gesteigert.
5. Im Gegensatz zu Leberschnitten war in Nieren- oder Gehirnschnitten der Maus kein nennenswerter Coffeinumsatz nachzuweisen.
6. Mäuseleberschnitte metabolisierten Coffein wesentlich schneller als Leberschnitte von Ratten. Der Coffeinumsatz pro Gramm Leber Feuchtgewicht und 60 min war bei Mäusen etwa doppelt so groß wie bei der Ratte.

### *Summary*

The influence of ethanol, aminophenazon, and phenobarbital on the caffeine metabolism of mice liver slices was tested using 1-methyl-<sup>14</sup>C-caffeine as the marker substance.

In these experiments the following results were obtained:

1. Caffeine metabolism was increased by the extension of the incubation time. The caffeine metabolism increased almost linearly up to 60 min, and during this time 109.5 nmol caffeine were metabolized per gram liver wet weight.
2. Ethanol decreased the caffeine metabolism of mice liver slices. Ethanol concentrations of 23.36, 46.72 and 93.44 mM showed a clear and dose-dependent inhibition of caffeine metabolism, reaching a maximal value of 67.1%.
3. Aminophenazon also decreased the metabolism of caffeine. This effect was augmented by increasing the concentrations of aminophenazon (10.4, 20.8, 41.6, 104.0 M) and an inhibition of 63.8% was observed after giving the highest concentration.
4. Pretreatment of mice with phenobarbital, producing an enzyme induction of the liver, clearly increased the metabolism of caffeine of mice liver slices. Under these conditions, the caffeine metabolism was increased by more than 300%.
5. In contrast to liver slices no important caffeine metabolism could be detected in kidney or brain slices of mice.
6. Mice liver slices were able to metabolize caffeine more quickly than liver slices of the rat. Within 60 min the metabolized caffeine per gram liver wet weight was more than twice higher for mice as compared to rats.

## Literatur

1. *Axelrod, J., J. Reichenthal*: The fate of caffeine in man and a method for its estimation in biological material. *J. Pharmacol. exp. Therap.* **107**, 519–523 (1953). – 2. *Burg, A. W., E. Werner*: Tissue distribution of caffeine and its metabolites in the mouse. *Biochem. Pharmacol.* **21**, 923–936 (1972). – 3. *Cornish, H. H., A. A. Christmann*: A study of the metabolism of theobromine, theophylline and caffeine in man. *J. Biol. Chem.* **228**, 315–323 (1957). – 4. *Czok, G., B. Schmidt, K. Lang*: Verteilung von  $8\text{-}^{14}\text{C}$ -Coffein im Organismus der Ratte. *Z. Ernährungswiss.* **9**, 103–117 (1969). – 5. *Elbel, H.*: Nachweis der Coffeinwirkung auf Blutalkohol und Trunkenheit. *Beitr. Gerichtl. Med.* **15**, 14–25 (1939). – 6. *Fischer, R. A.*: Statistische Methoden der Wissenschaft (Edinburgh 1956). – 7. *Fleming, R., D. Reynold*: Experimental studies in alcoholism. IV. Attempts to modify the concentration of alcohol in the blood after intravenous administration of alcohol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (Baltimore) **54**, 236–245 (1935). – 8. *Grüner, O., C. Federlein*: Über den Verlauf der Blutalkoholkurve nach Coffeingabe. *Blutalkohol* **3**, 188–199 (1965). – 9. *Hartmann, M.*: Untersuchungen an Mäusen zur Pharmakokinetik von Coffein und deren Beeinflussung durch Äthanol. Diss. Hamburg (1980). – 10. *Khanna, K. L., H. S. Rao, H. H. Cornish*: Metabolism of caffeine  $\text{H-3}$  in the rat. *Toxicology and applied Pharmacology* **22**, 292 (1972). – 11. *Lang, S., B. Schlick* von: Über die Beeinflussbarkeit des Alkoholumsatzes im Organismus. *Zeitschr. f. d. Ges. Exper. Med.* **99**, 81–84 (1936). – 12. *Pawan, G. L. S.*: Alcohol metabolism in man: Acute effects of physical exercise, caffeine, fructose and glucose on the rate of ethanol metabolism. *Biochem. J.* **106**, 19 (1968). – 13. *Schüppel, R.*: Äthanol und andere aliphatische Alkohole als Inhibitoren der mikrosomalen N-Demethylierung in vivo und in vitro. *Habil.-Schrift Tübingen* (1969). – 14. *Siegers, C. P., O. Strubelt, G. Back*: Influence of caffeine on ethanol absorption in rats. *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **274**, R. 108 (1972). – 15. *Siegers, C. P., O. Strubelt, G. Back*: Inhibition by caffeine of ethanol absorption in rats. *Europ. J. Pharmacol.* **20**, 181–187 (1972). – 16. *Soehring, K., R. Schüppel*: Wechselwirkungen zwischen Alkohol und Arzneimitteln. *Deutsch. Med. Wschr.* (Stuttgart) **91**, 1892–1896 (1966). – 17. *Stadie, W. C., B. C. Riggs*: Microtome for the preparation of tissue slices for metabolic studies of surviving tissues in vitro. *J. Biol. Chem.* **154**, 687–690 (1944). – 18. *Strubelt, O., C.-P. Siegers, H. Breining, J. Steffen*: Tierexperimentelle Untersuchungen zur chronischen Toxizität von Kaffee und Coffein. *Z. Ernährungswiss.* **12**, 252–260 (1973). – 19. *Vinagar, R., J. F. Truax, J. L. Selph, R. M. Welch, H. L. White*: Potentiation of the antilymmatory and analgesic activity of aspirin by caffeine in the rat. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **151**, 556–560 (1976). – 20. *Weigmann, R., J. Fleming*: Die Bedeutung des Coffeins in analgetischen Kombinationspräparaten. *Arzneimittelforschung* **53**, 606–609 (1953).

Für die Verfasser:

Prof. Dr. Georg Czok, Pharmakologisches Institut der Universität Hamburg,  
Martinistraße 52, 2000 Hamburg 20