

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT
FREIBURG I. BR., B.R. DEUTSCHLAND

DER EINFLUSS NATÜRLICHER 5,6-HYDRIERTER KAWA-PYRONE AUF ISOLIERTE HERZPRÄPARATE UND IHRE ANTIFIBRILLATORISCHE WIRKUNG AM GANZTIER

VON

R. KRETZSCHMAR UND H. J. MEYER

(Eingegangen am 2-6-1967).

In vorausgegangenen Arbeiten wurde über die lokalanaesthetische Wirksamkeit der in 5,6-Stellung hydrierten Pyrone des Kawa-Rhizoms (Piper methysticum Forst) Dihydromethysticin (DHM), Dihydrokawain (DHK), Methysticin (M) und Kawain (K) berichtet (18, 20). Als wirksamste Verbindung erreicht Kawain in der Oberflächenanaesthesie die Wirkungsstärke von Cocain.

Eine bekannte Eigenschaft der Lokalanaesthetica ist ihre negativ inotrope und negativ chronotrope Wirkung (Literatur bei LAUBENDER). In Versuchen am Ganztier bewirken Kawa-Pyrone nach i.v. Injektion einen vorübergehenden dosisabhängigen Blutdruckabfall (19). Es ergab sich die Frage, inwieweit hierfür neben der spasmolytischen Wirkungskomponente (21) eine direkte Herzwirkung verantwortlich gemacht werden muß. Für eine negativ inotrope Wirkung der Kawa-Pyrone sprechen Befunde mit DHM am Langendorff-Herzen, wo neben einer Steigerung des Coronardurchflusses eine Verminderung der Kontraktionsamplitude aufgetreten war (21).

In der vorliegenden Untersuchung sollte deshalb der Einfluß der in 5,6-Stellung hydrierten Kawa-Pyrone auf verschiedene Herzpräparate geprüft werden, wobei im einzelnen ihre Wirkung auf Kontraktibilität, Spontanfrequenz und elektrische Erregbarkeit sowie ihre antifibrillatorische Eigenschaft interessierten.

METHODIK

A. *Isolierte Organe*

Alle natürlichen Kawa-Pyrone sind in Wasser sehr schwer, in organischen Lösungsmitteln dagegen gut löslich. Das bei der Prüfung der spasmolytischen Aktivität der Pyrone an isolierten Organen verwendete Polyäthylenglykol 300 (21) war am isolierten Herzen wegen seiner positiv inotropen Eigenwirkung unbrauchbar. Dagegen hatte Methanol in den verwendeten Konzentrationen keinen oder nur einen geringen negativen Einfluß auf die Kontraktilität der Herzpräparate. Äthanol wirkte in Übereinstimmung mit Versuchen von DOLD (7) und KUNO (15) stärker negativ inotrop.

DHM, DHK, M und K (1) wurden 0,2–2,0 %ig in Methanol gelöst und am isolierten Froschherzen im konstanten Volumen von 0,005 ml/1 ml Nährlösung, am isolierten Meerschweinchenvorhof im Volumen von 0,00125–0,0075 ml/1 ml Badflüssigkeit zugesetzt.

1. *Isoliertes Froschherz nach Straub in der Anordnung nach Führer.*

Verwendet wurden insgesamt 20 männliche und weibliche Esculenten in den Monaten März bis Mai. Die Kanüle enthielt 1 ml Ringerlösung (0,65 % NaCl, je 0,02 % KCl und CaCl₂, 0,01 % NaHCO₃, 0,1 % Glucose). Die Registrierung erfolgte durch Hebelübertragung auf einen Rußkymographen.

In einigen Versuchen wurde die Schwellenreizstärke bei elektrischer Reizung mit Rechteckimpulsen von 1 Hz und 5 msec Impulsbreite ermittelt. Zur Stromzufuhr war die eine Elektrode, die gleichzeitig der Registrierung der Kontraktion diente, an der Herzspitze angebracht, die andere tauchte in die Nährlösung ein.

2. *Isolierter Meerschweinchenvorhof.*

a) *Registrierung von Kontraktionsamplitude und Spontanfrequenz.* — Die Meerschweinchenvorhöfe wurden von Tieren beiderlei Geschlechts im Gewicht von 250–500 g nach der Methode von HOLTZ und WESTERMANN (12) gewonnen und in einem 20 ml Badgefäß bei 29° C suspendiert. Die Tyrode-Lösung (0,8 % NaCl, je 0,02 % KCl und CaCl₂, 0,1 % NaHCO₃, 0,005 % NaH₂PO₄, 0,3 % Glucose) wurde mit Carbogen (95 % O₂, 5 % CO₂) durchperlt. Die Registrierung der Kontraktionen erfolgte über einen einarmigen Schreibhebel auf einem Rußkymographen, die diastolische Vorspannung betrug 0,75–1,0 g.

b) *Bestimmung der elektrischen Reizschwelle und der maximalen Folgefrequenz.* — Nach der Methode von DAWES (5) in der Modifikation für Meerschweinchenvorhöfe nach ALLES und ELLIS (1) wurde die maximale elektrische Reizfrequenz bestimmt, welcher der isolierte Vorhof noch folgt. Präparation und Anordnung der Präparate erfolgte wie bei 2a; Badgefäß 100 ml. Die elektrische Reizung erfolgte mit Rechteckimpulsen (1 msec) über 2 an den Herzohren angebrachte Elektroden. Die Bestimmung der Schwellenstromstärke erfolgte bei einer Reizfrequenz, die mäßig über der Spontanfrequenz lag. Bei 5facher Reizstärke wurde dann die Frequenz so lange erhöht, bis die Präparate nicht mehr folgten. Die Einwirkungszeit der Testsubstanzen bis zur Bestimmung der Schwellenstromstärke und der maximalen Folgefrequenz betrug 3 min. Die Verminderung der Folgefrequenz durch die Testsubstanzen wurde in % des Kontrollwertes errechnet.

DHK und K wurden in diesen Versuchen auch in wässriger Lösung geprüft. Maximal herstellbar sind Lösungen von 0,05 bzw. 0,02 %. Vergleichssubstanzen waren hier Chinidin-SO₄ und Procainamid-HCl.

(1) Versuchsmengen verdanken wir der Fa. Spezialchemie GmbH u. Co, Arzneimittel-fabrik München.

B. Versuche am Ganztier

Das in diesen Versuchen ausschließlich verwendete DHM wurde 2 %ig in Polyäthylenglycol 300 (PG 300) gelöst und innerhalb 30 sec injiziert.

1. Elektrische Flimmerschwelle des Meerschweinchens *in situ*.

In Anlehnung an die Methode von JOHNSON (13) in der Modifikation für Meerschweinchen nach PETTER und ZIPF (22) wurden Meerschweinchen im Gewicht von 350–450 g mit 1 g/kg Urethan i.p. narkotisiert und künstlich beatmet. Nach Eröffnung von Thorax und Herzbeutel wurde der Ventrikel über bipolare Silberelektroden gereizt. Mit Rechteckimpulsen (0,8 msec Impulsdauer, 45 Hz, 30–35 mA) bei einer Reizdauer von 15 sec wurde Kammerflimmern ausgelöst, das wenigstens 30 sec das Ende der elektrischen Reizung überdauerte. Die Registrierung des Kammerflimmerns erfolgte durch das EKG in Ableitung II. DHM wurde in eine V. jugularis injiziert. Die elektrische Reizung erfolgte nach Injektionsende und weiterhin alle 3 min, bis der Ventrikel wieder normale Fibrillation zeigte.

2. Ventrikuläre Arrhythmie und Extrasystolie durch i.v. Injektion von *k*-Strophanthin bzw. Noradrenalin am wachen Kaninchen.

In Anlehnung an die Methode von GARRETT *et al.* (8) erhielten wache Kaninchen *k*-Strophanthin fraktioniert über eine Ohrrendvene. Nach 2 Dosen von 50 µg/kg im Abstand von 30 min wurden alle 15 min 25 µg/kg injiziert, bis im EKG (Ableitg. II) bei deutlicher Dyspnoe ventrikuläre Extrasystolien und Kammerautomatie auftraten. In dieser Versuchsphase erfolgte die i.v. Injektion von DHM.

Ventrikuläre Extrasystolien wurden weiterhin durch i.v. Injektion von 10 µg/kg Noradrenalin innerhalb von 5 sec in eine Ohrrendvene am wachen Kaninchen ausgelöst. Die Gabe von DHM erfolgte *vor* Noradrenalin.

3. EKG am wachen Kaninchen bei Dauerinfusion von DHM bis zum Exitus.

An 3 nicht narkotisierten Kaninchen im Gewicht von 2,75–3,90 kg wurde DHM 5 %ig in reinem PG 300 bis zum Exitus infundiert. Die Infusionsgeschwindigkeit betrug 3 bzw. 4 mg/kg/min.

ERGEBNISSE

A. Isolierte Organe

1. Versuche am isolierten Froschherzen nach Straub.

Die Kawa-Pyrone DHM, M, K und DHK erwiesen sich an diesem Organ in allen Versuchen als negativ inotrop und negativ chronotrop wirksam. Dabei wirkten die Methysticine DHM und M stärker auf die Kontraktionsamplitude als auf die Schlagfrequenz, während DHK und K auch auf die Frequenz einen starken Einfluß hatten. Durch Auswechseln der Nährlösung war völlige Reversibilität der Pyronwirkung zu erzielen, selbst dann, wenn durch hohe Pyrondosen ein Herzstillstand in Diastole herbeigeführt worden war.

Abb. 1 zeigt in der oberen Reihe die negativ inotrope Wirkung von DHM im Konzentrationsbereich von 2×10^{-5} bis 8×10^{-5} g/ml. Danach liegt die ED_{50} von DHM wenig oberhalb von 5×10^{-5} g/ml. Die Beeinflussung der Spontanfrequenz ist gering; erst ab 5×10^{-5} g/ml wird eine geringe negativ chronotrope Wirkung beobachtet. Im unteren Teil der Abbildung sind M, K und Cocain in der Endkonzentration von 5×10^{-5} g/ml unmittelbar nacheinander vergleichend geprüft worden. M und K wirken etwa gleich stark negativ inotrop wie DHM,

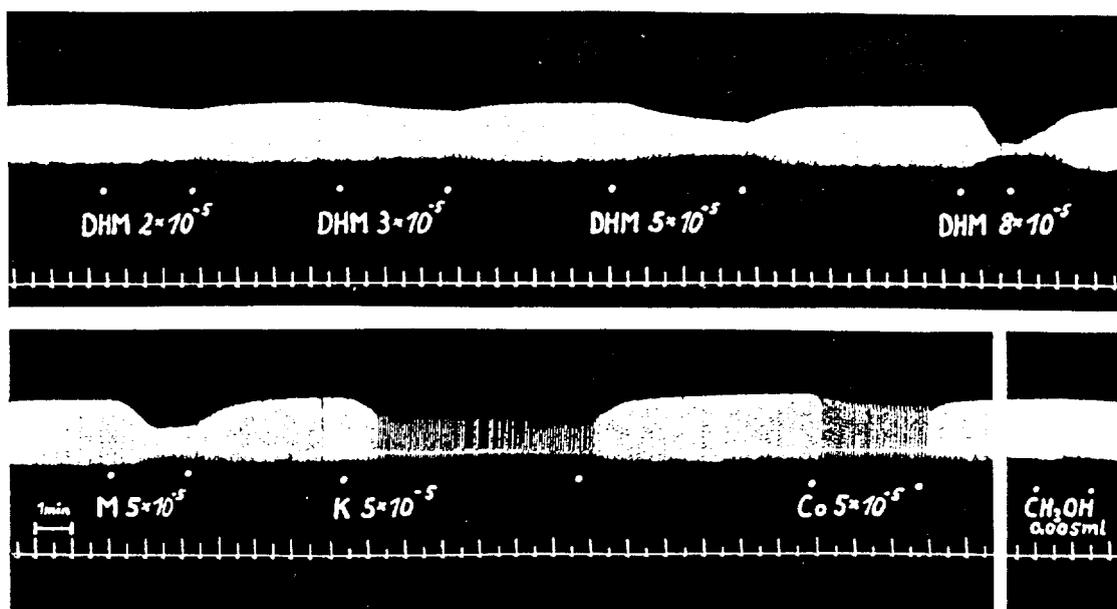


ABB. 1

Isoliertes Froschherz nach Straub. Negativ inotrope und negativ chronotrope Wirkung von $2-8 \times 10^{-5}$ g/ml Dihydromethysticin (DHM) und von 5×10^{-5} g/ml Methysticin (M), Kawain (K) und Cocain-HCl (Co). Angabe der Dosen in g/ml als Endkonzentration. Jede Testdosis der Pyrone war in 0,005 ml CH_3OH , Cocain im gleichen Volumen Aqua dest. gelöst; Nährflüssigkeit 1 ml. Rechts unten Kontrollversuch mit 0,005 ml CH_3OH . Zugabe und Auswaschen sind durch Punkte markiert. Zeitschreibung: 1/2 min.

während Cocain einen deutlich geringeren Effekt zeigt. Aus mehreren Einzelversuchen ergibt sich für die Pyrone übereinstimmend eine ED_{50} von etwa 5×10^{-5} g/ml, für Cocain von 8×10^{-5} g/ml. Sowohl bei K als auch bei Cocain fällt eine starke negativ chronotrope Wirkung mit Sinusbradycardie und partiellem AV-Block auf, die bei M und DHM auch in höheren Dosen nicht beobachtet wurde.

Nach Atropinisierung des Herzens, bei der die Wirkung von Acetylcholin vollständig aufgehoben war, blieb der negativ inotrope und chronotrope Effekt der Kawa-Pyrone und derjenige von Cocain unverändert erhalten.

Bei der Bestimmung der elektrischen Reizschwelle des Froschmyo-

kards zeigte sich, daß die elektrische Erregbarkeit erst durch solche Konzentrationen von DHM deutlich vermindert wurde, die zu einem starken negativ inotropen Effekt führten. So erhöhten beispielsweise 1×10^{-4} g/ml DHM bei einer Herabsetzung der Amplitude um 85 % die Reizschwelle von 2,2 auf 2,4 mA, $1,5 \times 10^{-4}$ g/ml von 2,2 auf 4,0 mA. Diese Konzentration führte zum Stillstand der spontanen Herzaktion. Die Änderungen der Reizschwelle waren voll reversibel.

2. Versuche am isolierten Meerschweinchenvorhof.

Auch an diesem Präparat wirkten die Kawa-Pyrone negativ inotrop und in höheren Dosen negativ chronotrop. Dies geht aus Tabelle I hervor, in der die maximalen Effekte aller Einzelversuche mit den

TABELLE I

Isolierter Meerschweinchenvorhof: Negativ inotrope und negativ chronotrope Wirkung von K, DHK, M, DHM und Cocain-HCl. Angegeben sind Mittelwerte mit mittl. Fehler (ϵ)

Substanz	Anzahl der Präparate	Endkonzentration in g/ml	Hemmung der Kontraktionsamplitude in %	Hemmung der Spontanfrequenz in %
K	3	5×10^{-5}	$32 \pm 5,3$	—
	3	1×10^{-4}	$54 \pm 16,7$	$20 \pm 5,1$
DHK	3	5×10^{-5}	$34 \pm 3,3$	—
	3 (1)	1×10^{-4}	$55 \pm 20,8$	$18 \pm 4,4$
M	3	5×10^{-5}	$30 \pm 10,2$	—
	3	1×10^{-4}	$46 \pm 6,2$	$10 \pm 1,7$
DHM	6	5×10^{-5}	$28 \pm 6,6$	$4 \pm 1,8$
	5	1×10^{-4}	$43 \pm 5,5$	$17 \pm 8,8$
Cocain-HCl	2	5×10^{-5}	$41 \pm 6,7$	—
	2 (1)	1×10^{-4}	$53 \pm 6,6$	$36 \pm 7,6$

(1) Bei einem weiteren Präparat Vorhofstillstand; daher bei der Auswertung unberücksichtigt.

Konzentrationen 5×10^{-5} und 1×10^{-4} g/ml als Mittelwerte aufgeführt sind. Als Vergleichssubstanz wurde wieder Cocain verwendet. Die Einwirkungszeit bis zum maximalen Effekt betrug durchschnittlich 2–3 min.

Während sich alle untersuchten Substanzen hinsichtlich der negativ inotropen Wirkung annähernd äquieffektiv verhalten und mit 1×10^{-4}

g/ml die Kontraktionsamplitude um etwa 50 % herabsetzen, ergibt sich im Hinblick auf die Stärke der Chronotropie folgende Reihenfolge: Cocain > K \approx DHK \approx DHM > M.

In einigen Versuchen wurde auch Procain-HCl geprüft, dessen inotrope Wirkung allerdings 4-5 mal schwächer war.

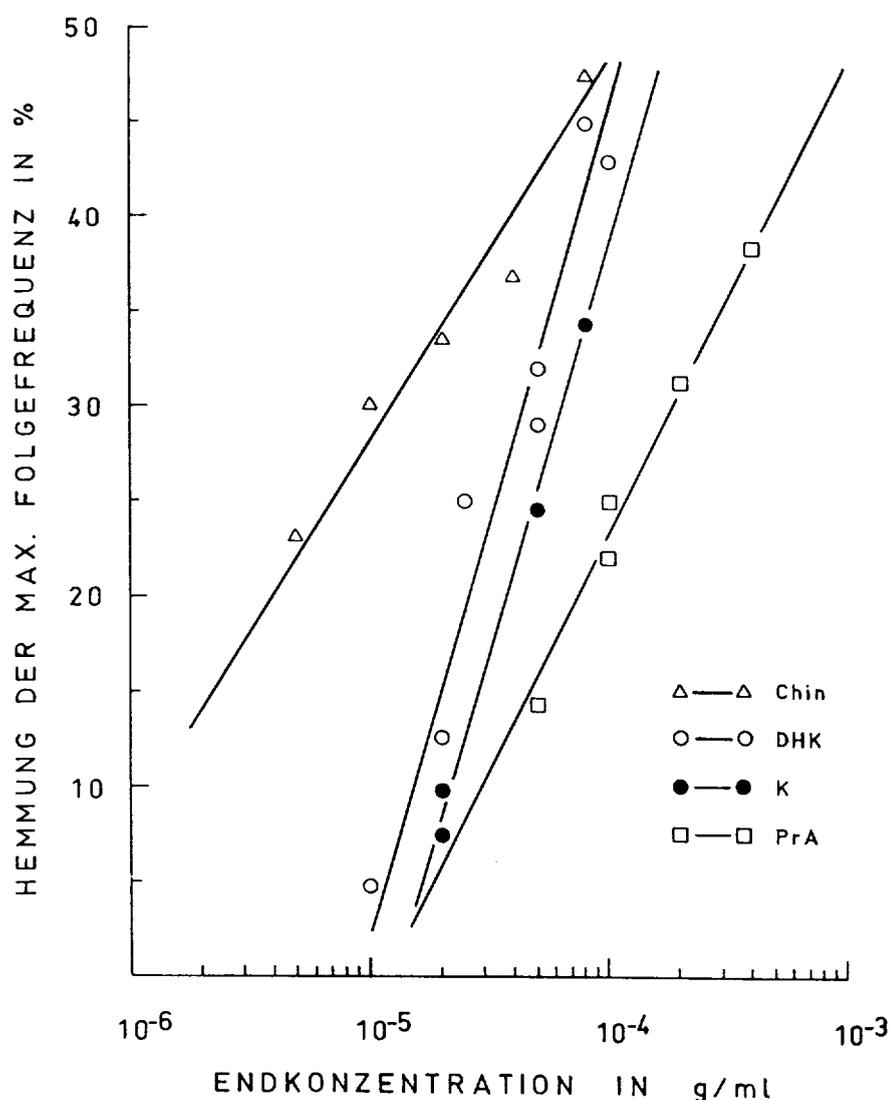


ABB. 2

Isolierter Meerschweinchenvorhof. Wirkung von DHK, K, Chinidin-SO₄ (Chin) und Procainamid-HCl (PrA) auf die maximale Folgefrequenz des Vorhofs bei elektrischer Reizung mit Rechteckimpulsen (1 msec, 10-15 mA). Dargestellt ist die prozentuale Hemmung der Folgefrequenz in Abhängigkeit von der angewandten Konzentration. Alle Substanzen wurden in physiol. NaCl gelöst; die Einwirkungszeit betrug 3 min.

Spontaner Stillstand der Vorhöfe trat bei den untersuchten Substanzen in der Regel ab $1,5 \times 10^{-4}$ g/ml auf, ohne daß eine stärkere Herabsetzung von Amplitude und Schlagfrequenz vorausging.

3. Maximale Folgefrequenz des isolierten Meerschweinchenvorhofs.

Zur Feststellung antifibrillatorischer Eigenschaften der Kawa-Pyrone bestimmten wir nach DAWES (5) die maximale Folgefrequenz isolierter Meerschweinchenvorhöfe bei elektrischer Reizung. Diese Folgefrequenz wird durch alle Kawa-Pyrone gehemmt.

Abb. 2 zeigt die prozentuale Verminderung der Folgefrequenz durch steigende Konzentrationen von DHK und K in wässriger Lösung im Vergleich zu Chinidin-SO₄ und Procainamid-HCl. Bei parallelem Verlauf der Dosis-Wirkungskurven war die Wirksamkeit von Chinidin etwa 20 mal höher als diejenige von Procainamid. Zwischen beiden Kurven liegen die Dosis-Wirkungskurven von DHK und K. Sie verlaufen untereinander ebenfalls parallel, jedoch wesentlich steiler als die der Vergleichssubstanzen. DHK wirkt etwas stärker als K. Beide Pyrone erreichen in hohen Dosen die Wirksamkeit von Chinidin.

TABELLE II

Isolierter Meerschweinchenvorhof: Wirkung von K, DHK, M, DHM, Chinidin-SO₄ und Procainamid-HCl auf die maximale Folgefrequenz und die elektrische Reizschwelle. Pyrone in Methanol gelöst

Substanz	Anzahl der Präparate	Endkonzentration in g/ml ⁽¹⁾	Hemmung der max. elektr. Folgefrequenz in % ± ε	Erhöhung der elektr. Reizschwelle ⁽²⁾ in % ± ε
Chinidin —SO ₄	4	5 × 10 ⁻⁵	40,4 ± 2,70	22 ± 12,7
K	5	5 × 10 ⁻⁵	31,8 ± 4,48	25 ± 11,4
DHK	6	5 × 10 ⁻⁵	30,2 ± 1,86	33 ± 9,4
M	4	5 × 10 ⁻⁵	25,3 ± 2,82	29 ± 13,8
DHM	5	5 × 10 ⁻⁵	25,3 ± 4,00	15 ± 7,5
Procainamid-HCl	4	5 × 10 ⁻⁵	16,1 ± 2,14	11 ± 6,3

⁽¹⁾ Einwirkungszeit in allen Versuchen 3 min.

⁽²⁾ Reizschwelle des unbehandelten Vorhofs 2–3 mA.

Die Wirksamkeit aller 4 Pyrone im Vergleich zu Chinidin und Procainamid ergibt sich aus Tab. II, in der Mittelwerte aus mehreren Versuchen aufgeführt sind. Bei der geprüften Konzentration von 5 × 10⁻⁵ g/ml ist außer der Hemmung der Folgefrequenz der Einfluß auf die elektrische Reizschwelle aufgeführt. Aus der Tabelle geht hervor, daß alle Pyrone hinsichtlich ihrer Hemmwirkung auf die maximale

Folgefrequenz zwischen Chinidin und Procainamid einzuordnen sind. Zwischen den Kawainen und den Methysticinen scheint ein geringer Wirkungsunterschied zu bestehen; gegenüber Procainamid ist der Unterschied in der Wirkungsstärke bis auf DHM mit $p < 0,05$ signifikant. Alle getesteten Substanzen erhöhen in der verwendeten Konzentration die elektrische Reizschwelle.

B. Versuche am Ganztier

1. Wirkung von DHM auf die elektrische Flimmerschwelle des Meerschweinchenventrikels *in situ*.

Durch i.v. Injektion geeigneter Dosen von DHM wird die Flimmerschwelle bei direkter elektrischer Ventrikelreizung am Meerschweinchen erhöht bzw. das mit Schwellenstromstärke ausgelöste Kammerflimmern verhindert. Einen typischen Versuch zeigt Abb. 3, in der die Veränderungen des EKGs durch elektrische Reizung vor und nach Gabe von 20 mg/kg DHM i.v. im Ausschnitt wiedergegeben sind.

In diesem Versuch betrug die Dauer der Fibrillation bei den verwendeten Reizparametern vor und nach Ende der DHM-Wirkung 45 sec. Hiervon sind in der obersten und untersten Reihe der Abbildung 4 sec umfassende Ausschnitte dargestellt (*a*). Im oberen Teil ist außerdem ein Normal-EKG vor und nach der Reizung (*n, c*) und der Übergang von Kammerfibrillieren zum Sinusrhythmus (*b*) wiedergegeben. Im unteren Teil wird die Wirkung von DHM am gleichen Tier gezeigt. 15 sec, 3 und 6 min nach Injektionsende von DHM wurde die Flimmerbereitschaft geprüft, wobei sich 15 sec und 3 min nach Injektionsende kein Kammerflimmern auslösen ließ. Auffällig ist nach der ersten Reizung eine starke Sinusbradycardie. Nach 6 min war die Wirkung von DHM abgeklungen.

2. Wirkung von DHM auf ventrikuläre Extrasystolien am wachen Kaninchen, hervorgerufen durch Strophanthin bzw. Noradrenalin.

Durch i.v. Injektion von DHM kann die toxische Herzwirkung hoher Strophanthindosen herabgesetzt oder beseitigt werden. Abb. 4 enthält EKG-Störungen mit Verlust des Sinusrhythmus und ventrikulärer Extrasystolie, die durch fraktionierte i.v. Injektion von insgesamt 150 $\mu\text{g/kg}$ *k*-Strophanthin, über 1 std verteilt, am wachen Kaninchen erhalten wurden. Durch langsame Injektion von 20 mg/kg DHM ließ sich dieser Zustand schlagartig beseitigen. Auch die gleichzeitige schwere Dyspnoe und Zyanose waren unmittelbar nach Gabe von DHM aufgehoben.

Die einzelnen EKGs wurden vor und nach Strophanthin-Gabe (1-3) sowie 5 sec und 5 min nach DHM-Injektion (4 u. 5) erhalten. Die Arrhythmie setzte in der 3. min nach der letzten Strophanthin-Gabe ein. Daraufhin erfolgte die Injektion von DHM. Teilbild 4 bei Injektionsende zeigt Sinusarrhythmie von stark verlangsamter Frequenz. Sinusarrhythmie und Bradycardie sind 5 min nach DHM nur noch schwach ausgeprägt.

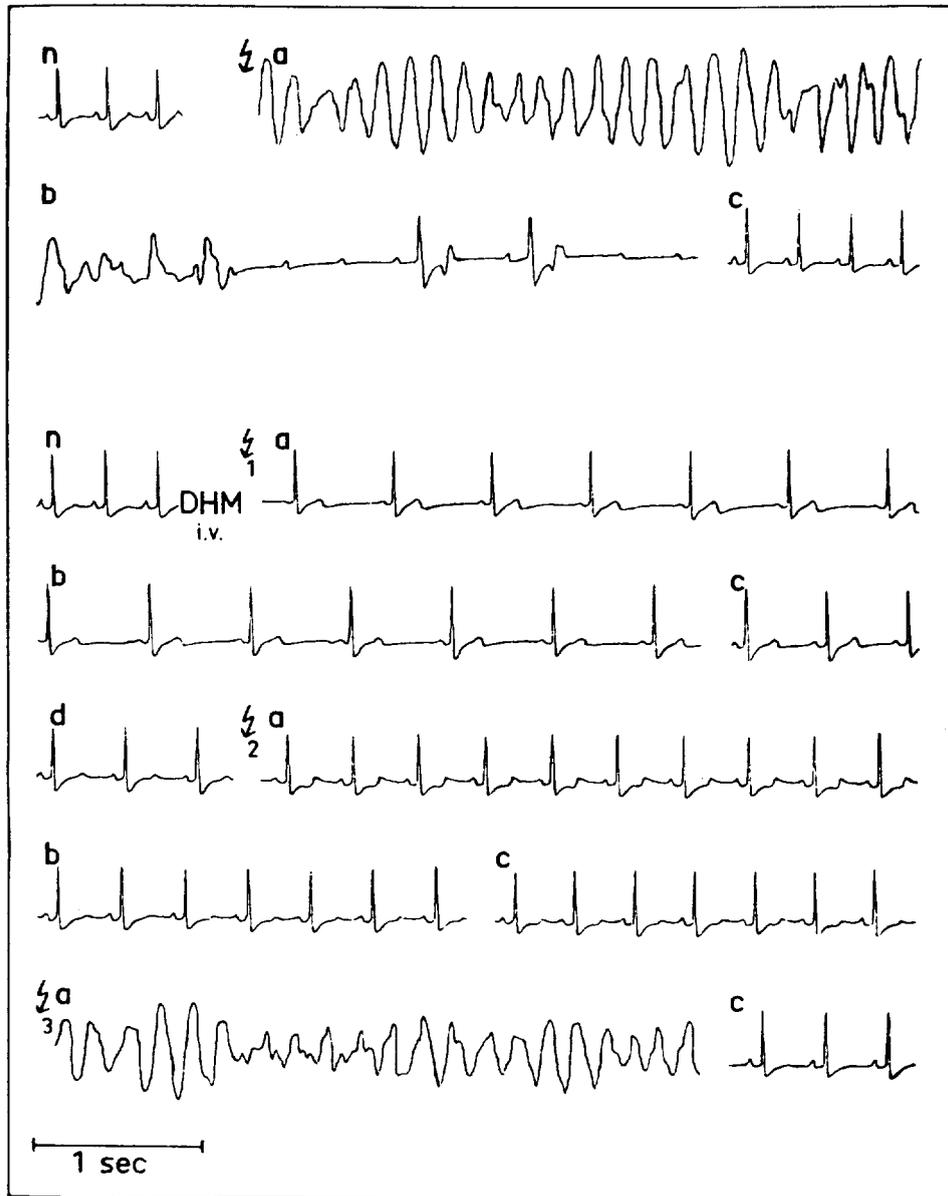


ABB. 3

EKG vom Meerschweinchen (Abltg. II), 460 g, Urethannarkose (1 g/kg i.p.), Thorakotomie, künstliche Beatmung.

Oben: Kammerflimmern nach elektrischer Ventrikelreizung am unvorbehandelten Tier. Elektrische Reizung (35 mA, 0,8 msec, 45 Hz; Reizdauer 15 sec) ist in der gesamten Abbildung durch einen Pfeil symbolisiert. Unten: Antifibrillatorischer Effekt von 20 mg/kg DHM i.v. (2 %ig in PG 300). Injektionsdauer 30 sec. Die mit 1, 2 und 3 bezeichneten Reizungen erfolgten 45 sec, 3 bzw. 6 min nach Injektionsbeginn. Ausschnitte a-d: 20, 45, 90 bzw. 180 sec nach jeweiligem Schockbeginn; n: EKG des unbehandelten Tieres.

Ventrikuläre Extrasystolien wurden am nicht narkotisierten Kaninchen auch durch $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ Noradrenalin i.v. hervorgerufen. Ebenso wie bei Strophanthin verhinderten $20 \text{ mg}/\text{kg}$ DHM i.v. auch diesen Effekt.

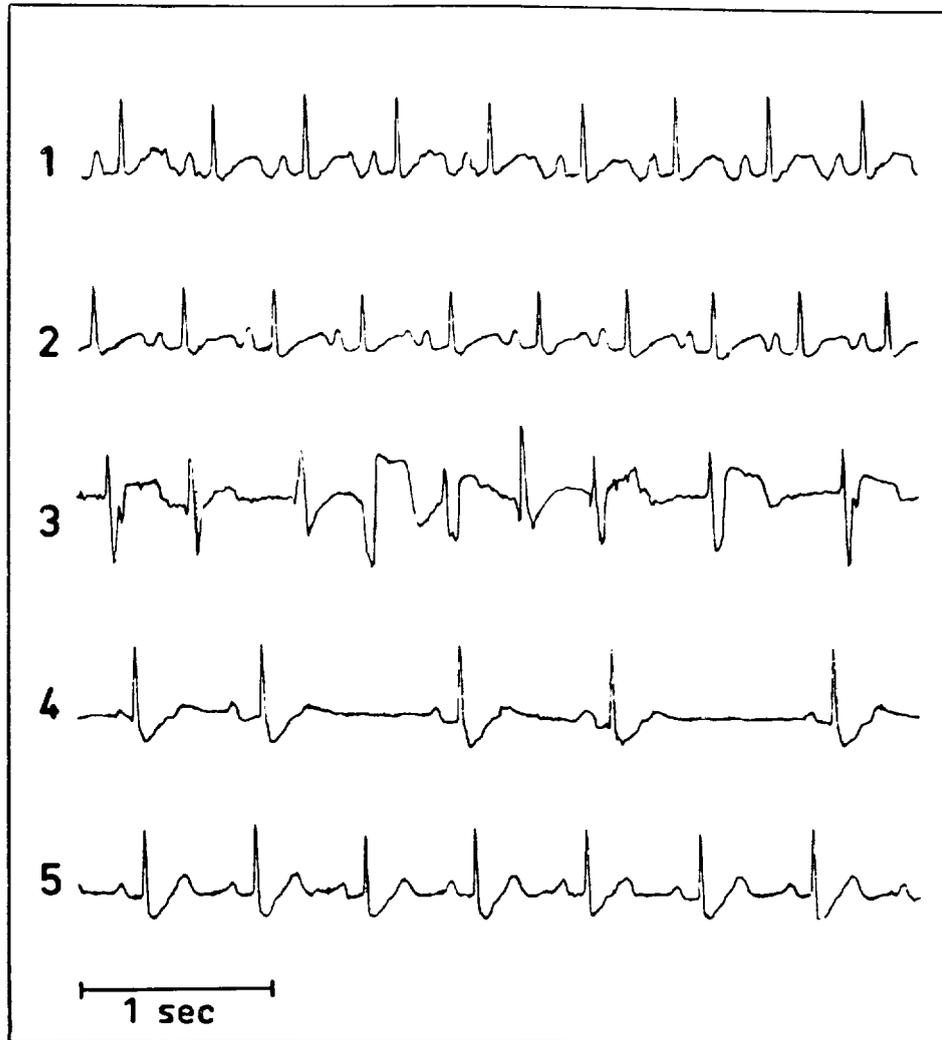


ABB. 4

*EKG vom wachen Kaninchen (Abltg. II), männlich, 3,04 kg. Wirkung von $20 \text{ mg}/\text{kg}$ DHM i.v. (2 %ig in PG 300, Injektionsdauer 30 sec) auf die durch *k*-Strophanthin erzeugte ventrikuläre Arrhythmie. Strophanthindosis $150 \mu\text{g}/\text{kg}$ innerhalb 1 std fraktioniert i.v. (s. METHODIK).*

1 = Kontroll-EKG vor Strophanthin, 2 = 2 min und 3 = 3 min nach letzter Strophanthininjektion, 4 = EKG unmittelbar und 5 = 5 min nach Gabe von DHM; Injektionsbeginn $3\frac{1}{4}$ min nach der letzten Strophanthindosis.

3. *EKG bei Dauerinfusion von DHM am nicht narkotisierten Kaninchen.*

Die Wirkungen von DHM bei i.v. Injektion auf Herz und Kreislauf wacher und narkotisierter Kaninchen wurden an anderer Stelle mitgeteilt (19). Hier soll die Wirkung einer Dauerinfusion von DHM auf das EKG beschrieben werden, wobei $3\text{--}4 \text{ mg}/\text{kg}/\text{min}$ infundiert wurden.

Nach einer Gesamtdosis von 150–170 mg/kg trat der Tod infolge Atemlähmung ein. Am EKG wurde bis zum Atemstillstand neben geringfügigen Frequenzschwankungen nur eine geringgradige Verbreiterung der ST-Strecke, nie aber eine Verlängerung des PQ-Intervalls beobachtet. Bei Dauerinfusion von DHM zeigt das EKG somit nicht die schweren Veränderungen, wie sie bei Dauerinfusion von Procainamid auftreten und unter dem Bilde von Extrasystolien, ventrikulärer Tachycardie und Kammerflimmern schließlich zum Tode führen (17).

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Aus den vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß sich die geprüften Pyronverbindungen des Kawa-Rhizoms in ihrer Wirkung auf die Spontanitätigkeit und elektrische Erregbarkeit isolierter Herzpräparate weitgehend wie Lokalanaesthetica verhalten. Sie wirken bei genügend hoher Konzentration auf das isolierte Froschherz und den isolierten Meerschweinchenvorhof negativ inotrop, chronotrop und bathmotrop. Zwischen der negativ inotropen Wirksamkeit und der lokalanaesthetischen Eigenschaft der Pyrone scheint jedoch keine direkte Beziehung zu bestehen, da die Pyrone die Kontraktionsamplitude gleich stark hemmen, sich aber sowohl in ihrer oberflächen- als auch infiltrationsanaesthetischen Wirksamkeit deutlich voneinander unterscheiden (18, 20). Auch ist bei der Lokalanaesthetie das Wirkungsverhältnis von Cocain und Procain zu den Kawa-Pyronen ein völlig anderes als bei der negativ inotropen Wirkung. Während Cocain und Procain die Kontraktionsamplitude gleich bzw. schwächer als die Pyrone hemmen, übertreffen sie diese deutlich in ihrer oberflächen- bzw. infiltrationsanaesthetischen Wirksamkeit.

Die Kawa-Pyrene erwiesen sich hinsichtlich ihrer negativ inotropen Wirkung als resistent gegenüber Atropin und unterscheiden sich damit von Acetylcholin. Damit in Einklang steht der in orientierenden Versuchen am Froschherzen erhobene Befund, daß die Pyrone ebenso wie Lokalanaesthetica (27) das Aktionspotential bei der negativ inotropen Wirkung nicht verkürzen. Demnach wäre für die Pyrone eine direkte Beeinflussung der elektro-mechanischen Koppelung bzw. des kontraktilen Systems anzunehmen (vgl. hierzu 2, 3). Der bei allen Pyronen festgestellte negativ inotrope Effekt läßt es nicht ausgeschlossen erscheinen, daß der initiale Blutdruckabfall nach rascher i.v. Injektion hoher Pyron-dosen neben einer Verminderung des peripheren Widerstandes infolge Gefäßspasmolyse durch diese direkte Herzwirkung hervorgerufen wird.

Für die negativ chronotrope Wirkung der Kawa-Pyrone lag die Schwellenkonzentration sowohl am Froschherzen als auch am Meerschweinchenvorhof 3–5 mal höher als für inotrope Effekte. Die Schlagfrequenz wurde jedoch anders als die Kontraktionsamplitude von den einzelnen Pyronen unterschiedlich stark beeinflusst. Die Kawaine K und DHK waren deutlich wirksamer als die Methysticine DHM und M. Den stärksten negativ chronotropen Effekt hatte jedoch Cocain. Hervorzuheben ist, daß die gleiche Reihenfolge bei der oberflächenanaesthetischen Wirksamkeit, daneben aber auch bei der Löslichkeit in Wasser oder pflanzlichen Ölen besteht.

In hohen Konzentrationen führen die Kawa-Pyrone ebenso wie Cocain und Procain zum Herz- bzw. Vorhofstillstand in Diastole. Da der Herzstillstand in der Regel schon nach einer verhältnismäßig geringen Herabsetzung der Schlagfrequenz und der Amplitude auftrat, ist er nicht als unmittelbare Folge der negativ chronotropen und inotropen Wirkung sondern als negativ bathmotroper Effekt aufzufassen. Dafür spricht auch, daß die elektrische Reizschwelle sowohl des Froschherzens als auch des Meerschweinchenvorhofs mit steigenden Dosen zunehmend erhöht wird. Andererseits kann eine negativ dromotrope Wirkung zumindest für die Kawaine nicht ausgeschlossen werden, da sie ähnlich wie Cocain am isolierten Froschherzen einen AV-Block verschiedenen Grades bewirken. Ein derartiger Effekt wurde unter der Einwirkung von DHM und M nie beobachtet. Hiermit ist das Ergebnis der DHM-Dauerinfusion am wachen Kaninchen gut zu vereinen, wo bis in höchste Dosen EKG-Veränderungen im Sinne einer Überleitungsstörung nicht auftraten.

Die Kawa-Pyrone gehören als einfache Lactone in eine Substanzgruppe, deren Herzwirkung im Hinblick auf die Verwandtschaft zum Lactonteil der Herzglycoside mehrfach untersucht worden ist. CHEN *et al.* (4) untersuchten am Frosch die Wirkung einer Reihe von 5- und 6-gliedrigen Lactonen auf systolischen Herzstillstand hin. Nicht wirksam waren von den hier interessierenden 6-gliedrigen Lactonen u. a. das nicht substituierte α -Pyron, das 5-Methyl- bzw. 5-Äthyl- α -Pyron und das 4,6-Dimethyl- α -Pyron, während Methyl- und Äthylcumalat zum systolischen Herzstillstand führten. Nach GIARMAN (9, 10) sind die ungesättigten 6-gliedrigen Lactone Parasorbinsäure, Cumalinsäure und Cumarin am isolierten Froschherzen in Konzentrationen von 5×10^{-5} bis 2×10^{-4} g/ml positiv inotrop wirksam und führen zum systolischen Herzstillstand. Das gesättigte Delta-Caprolacton bewirkte im gleichen Konzentrationsbereich diastolischen Herzstillstand. Die Schlußfolgerung von GIARMAN, daß alle ungesättigten Lactone positiv inotrop wirken, hat für die ungesättigten Lactone des Kawa-Rhizoms keine Gültigkeit. Offenbar ist hierfür weniger die Sättigung des Lactonringes als vor allem Art und Stellung der Substituenten entscheidend, was auch aus den Untersuchungen von CHEN *et al.* (4) hervorgeht.

Unsere Untersuchungen ergaben weiterhin, daß die 4 Kawa-Pyrone antiarrhythmische Eigenschaften besitzen. Als Ausdruck dessen hemm-

ten sie die maximale Folgefrequenz elektrisch getriebener Meerschweinchenvorhöfe. Ihre Wirksamkeit lag bei größerer Steilheit der Dosis-Wirkungskurven zwischen derjenigen von Chinidin und Procainamid. Die wirksamen Konzentrationen der Kawa-Pyrone (1×10^{-5} — 1×10^{-4} g/ml) liegen ähnlich wie bei Chinidin und Procainamid (11, 23, 25, 26) im Bereich der negativ inotropen und chronotropen Wirkung.

Die Bestimmung der maximalen Folgefrequenz zur Prüfung antiarrhythmisch wirksamer Substanzen wurde von VAUGHAN WILLIAMS u. SZEKERES (26) durch Vergleich mit direkter Messung der Fibrillationsschwelle als brauchbar erkannt. Einer Verminderung der Folgefrequenz braucht nicht notwendigerweise eine Verlängerung der Refraktärphase des Myokards zugrundezuliegen (6, 26). Als Ursache der unter dem Einfluß von Antiarrhythmica und Lokalanaesthetica tatsächlich messbaren Verlängerung der Refraktärphase des Myokards, die man ganz allgemein „effektive“ Refraktärzeit nennt, wird eine Beeinflussung der Depolarisationsphase des Aktionspotentials angesehen, da diese Substanzen die Anstiegssteilheit und die Größe des Overshoots reduzieren, die Repolarisationsphase aber nur unwesentlich verlängern (14, 24, 25, 27). Dieser Befund wird von WEIDMANN (27) als Hemmung des aktiven Na-Transportmechanismus durch die Membran der Herzmuskelfaser gedeutet. Die in orientierenden Versuchen mit Kawa-Pyronen gefundene Verminderung der Anstiegssteilheit des Aktionspotentials am Froschherzen legt einen ähnlichen Wirkungsmechanismus nahe.

Die hier untersuchten 5,6-hydrierten α -Pyrone wirken nach den vorliegenden Untersuchungen qualitativ und mit Ausnahme von chronotropen Effekten auch quantitativ gleichartig, so daß die Wirkung am Herzen weder durch die Hydrierung in 7,8-Stellung (DHK und DHM) noch durch die Einführung einer Dioxymethylen-Gruppe am Benzolring (Methysticine) entscheidend beeinflußt wird.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Inhaltstoffe des Kawa-Rhizoms (*Piper methysticum* Forst) DHK, K, DHM und M verhalten sich in ihrer Wirkung auf die Spontantätigkeit und elektrische Erregbarkeit isolierter Herzpräparate (Froschherz, Meerschweinchenvorhof) weitgehend wie Lokalanaesthetica: In Konzentrationen ab 1×10^{-5} g/ml wirken sie ähnlich wie Cocain negativ inotrop, in höheren Dosen negativ chronotrop und negativ bathmotrop. Darüber hinaus zeigen sie in verschiedenen Versuchsanordnungen antiarrhythmische Eigenschaften. Ihre Wirksamkeit liegt zwischen derjenigen von Chinidin und Procainamid.

SUMMARY

Cardiac action of genuine pyrones of the kawaroot (Piper methysticum Forst) and their antifibrillatory activity.

The pyrones of the kawaroot dihydrokavain (DHK), kavain (K), dihydromethysticin (DHM), and methysticin (M) dissolved in methyl alcohol have been investigated for their actions on the isolated frog heart and guinea pig auricle.

1. The 4 pyrones inhibited similarly to cocaine the amplitude of contraction in doses ranging from 1×10^{-5} to $1,5 \times 10^{-4}$ g/ml.
2. The kawa constituents exerted a negative chronotropic action in concentrations 3 to 5 times higher than those necessary to elicit negative inotropic effects. DHK and K were more effective than DHM and M, exceeded only by cocaine. This activity of the kawa pyrones and of cocaine corresponds to their local anesthetic action.
3. In doses of $1,5-2,0 \times 10^{-4}$ g/ml the kawa compounds and cocaine cause an abrupt diastolic standstill of frogs' ventricles and of guinea pigs' auricles, the threshold for electrical excitation being increased.
4. The pyrones have been found to possess an antiarrhythmic activity. In experiments with electrically driven guinea pig auricles they produced a large increase in "effective" refractory period indicated by a decrease in frequency. The potency was intermediate between quinidine and procainamide.
5. In anesthetized guinea pigs DHM was shown to protect the heart against ventricular fibrillation caused by direct electrical stimulation of the ventricle. In unanesthetized rabbits DHM was capable of inhibiting the ventricular premature contractions and arrhythmias provoked by excessive doses of strophanthine or norepinephrine.

LITERATUR

1. — ALLES, G. A. und ELLIS, Ch. H. *J. Pharmacol.*, 1948, 94, 416.
2. — ANTONI, H., ENGSTFELD, G. und GRETEN, H. *Arzneimittelforsch.*, 1963, 13, 706.
3. — ANTONI, H. und ROTMANN, Th. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 1964, 219, R 10.
4. — CHEN, K. K., STELDT, F. A., FRIED, J. and ELDERFIELD, R. C. *J. Pharmacol.*, 1942, 74, 381.
5. — DAWES, G. S. *Brit. J. Pharmacol.*, 1946, 1, 90.
6. — DAWES, G. S. and VANE, J. R. *J. Physiol.*, (Lond.), 1956, 132, 611.
7. — DOLD, H. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 1906, 112, 600.
8. — GARRETT, J., MOREIRA, M. G., OSWALD, W. and GUIMARAES, S. *J. Pharmacol.*, 1964, 143, 243.
9. — GIARMAN, N. J. *J. Pharmacol.*, 1948, 94, 232.
10. — GIARMAN, N. J. *J. Pharmacol.*, 1949, 96, 119.
11. — HOLLAND, W. C. *Amer. J. Physiol.*, 1957, 190, 492.

12. — HOLTZ, P. und WESTERMANN, E. *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1955, 225, 421.
13. — JOHNSON, E. A. *Brit. J. Pharmacol.*, 1954, 9, 341.
14. — JOHNSON, E. A. *J. Pharmacol.*, 1956, 117, 237.
15. — KUNO, Y. *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1913, 74, 399.
16. — LAUBENDER, W. *Handb. exp. Pharmacol. Ergzbd.*, 1939, 8, 45.
17. — MARK, L. C., KAYDEN, H. J., STEELE, J. M., COOPER, J. R., BERLIN, I., ROVENSTINE, E. A. and BRODIE, B. B. *J. Pharmacol.*, 1951, 102, 5.
18. — MAY, H. U. und MEYER, H. J. *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1965, 250, 273.
19. — MAY, H. U., MEYER, H. J. und RÁKOS, B. *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1965, 251, 155.
20. — MEYER, H. J. und MAY, H. U. *Klin. Wschr.*, 1964, 42, 407.
21. — MEYER, H. J. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1965, 154, 449.
22. — PETTER, A. und ZIPF, K. *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1962, 243, 519.
23. — ROTHMAN, S. and YANG, W. C. *Amer. J. Physiol.*, 1964, 206, 283.
24. — SZEKERES, L. and VAUGHAN WILLIAMS, E. M. *J. Physiol.*, (Lond.), 1962, 160, 470.
25. — VAUGHAN WILLIAMS, E. M. *Brit. J. Pharmacol.*, 1958, 13, 276.
26. — VAUGHAN WILLIAMS, E. M. and SZEKERES, L. *Brit. J. Pharmacol.*, 1961, 17, 424.
27. — WEIDMANN, S. *J. Physiol.*, (Lond.), 1955, 129, 568.