

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

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ANTIKONVULSIVE WIRKSAMKEIT DER PYRONVERBINDUNGEN AUS PIPER METHYSTICUM FORST

VON

R. KRETZSCHMAR UND H. J. MEYER ⁽¹⁾

(Eingegangen am 23-9-1968).

Von den spezifischen Inhaltsstoffen des Kawa-Rhizoms (*Piper methysticum* Forst) — den sog. Kawa-Pyrone — galten längere Zeit nur Dihydrokawain (6, 23) und Dihydromethysticin (6) als verantwortlich für die sedative Wirkung der Droge. Tatsächlich besitzen aber neben Dihydrokawain (DHK) und Dihydromethysticin (DHM) auch andere Kawa-Pyrone, nämlich Kawain (K), Methysticin (M), Yangonin (Y) und Desmethoxyyangonin (DMY), motilitätshemmende und andere zentraldepressive Wirkungen, wie z.B. Krampfhemmung, zentrale Muskelrelaxation, Hemmung von Fremdreflexen und Verstärkung der Wirkung von Narkotika (9, 10, 11, 13, 16, 17, 24). Hiervon soll im folgenden die krampfhemmende Wirkung dieser Stoffe genauer untersucht und mit der bereits von uns beschriebenen antikonvulsiven Wirkung von DHK und DHM (14, 15) verglichen werden.

Die Krampfhemmung wurde deshalb als Test für die zentralnervöse Wirksamkeit gewählt, weil die Pyrone hierbei, verglichen mit anderen pharmakologischen Eigenschaften, schon in besonders kleinen Dosen wirksam sind. Mit Hilfe des von uns als Testmethode verwendeten maximalen Elektroschocks (MES-Test) lassen sich darüberhinaus Dosis-Wirkungskurven besonders gut erstellen und reproduzieren. Neben dem Elektroschock wurde noch die Wirkung auf den Pentetrazolkrampf untersucht. Zur Charakterisierung der antikonvulsiven Wirksamkeit prüften wir u.a. auch die Wirkung an reserpinisierten Tieren (vgl. 3, 4).

Alle Kawa-Pyrone sind chemisch als aromatisch substituierte sechs-

⁽¹⁾ Am 30. Juli 1968 verstorben.

gliedrige Lactone bzw. α -Pyrone aufzufassen. Bezüglich der Strukturunterschiede zwischen den einzelnen Pyronen sei auf andere Veröffentlichungen verwiesen (7, 8, 13, 17, 24). Ein besonders charakteristischer Unterschied besteht zwischen Y und DMY einerseits und den übrigen Pyronen andererseits. Bei Y und DMY ist der Lactonring völlig ungesättigt, bei DHK, DHM, K und M aber in 5,6-Stellung hydriert. Von großem Interesse war deshalb die Frage, welchen Einfluß dieser Unterschied auf die Wirkungsstärke hat. In der Literatur sind Kawa-Pyrone mit völlig ungesättigtem Lactonring verschiedentlich als pharmakologisch inert bezeichnet worden (vgl. 7). In die vorliegenden Untersuchungen wurden die Antikonvulsiva Phenobarbital und Diphenylhydantoin und die antikonvulsiv wirksamen Verbindungen Mephesisin (1) und Procain (2, 21) als Vergleichssubstanzen mit einbezogen.

METHODIK

Die Versuche wurden an männlichen Albinomäusen im Gewicht von 20 bis 27 g in einer Klimakammer bei 24° C und 50 % rel. Feuchtigkeit durchgeführt. Bei peroraler Applikation der Wirkstoffe wurden die Tiere 3 std vor Versuchsbeginn nüchtern gehalten, um einheitliche Resorptionsbedingungen zu gewährleisten. In den übrigen Versuchen hatten die Tiere bis zum Versuchsbeginn freien Zugang zu Futter und Wasser.

Die intraperitoneale und perorale Verabreichung der Kawa-Pyrone (1) erfolgte als ölige Lösung. Wir lösten die weitgehend wasserunlöslichen Pyrone durch Erwärmen in Ol. Arachidis und injizierten sie anschließend körperwarm. Bei 37° C sind ölige Lösungen von DHK bis 11 %ig, K bis 3,5 %ig, DHM bis 2,0 %ig, M bis 0,75 %ig, Y bis 0,7 %ig und DMY bis 1,2 %ig stabil. Die Konzentrationen wurden so gewählt, daß wir den Tieren 0,2–0,5 ml/20 g injizierten.

Zur intravenösen Injektion lösten wir die Pyrone durch Erwärmen in Polyäthylenglykol 300 (PG 300). Stabile Lösungen der Pyrone in PG 300 sind durchweg in höheren Konzentrationen herstellbar als ölige Lösungen. Bei intravenöser Injektion betrug die Injektionszeit grundsätzlich 15 sec, das Injektionsvolumen maximal 0,06 ml/20 g.

Diphenylhydantoin, Phenobarbital und Mephesisin wurden wie die Pyrone als Lösungen in Ol. Arachidis bzw. PG 300 verabreicht, Procain-HCl in physiologischer NaCl-Lösung.

Elektroschock. Die antikonvulsive Wirkung gegen den Elektroschock ermittelten wir nach dem von SWINYARD u. Mitarb. (20) angegebenen Verfahren des maximalen Elektroschocks (MES). Der Schock wurde mit dem Reizgenerator der Firma NETHALER u. HINZ, Hamburg ausgelöst. Die Stromzufuhr erfolgte über Cornealelektroden nach SPIEGEL (19). Verwendet wurden Rechteckimpulse mit einer Frequenz von 60 Hz, einer Impulsbreite von 1 msec und der Reizstärke von 50 mA. Die Reizzeit betrug 0,3 sec. Bei dieser Strommenge krampften alle Tiere maximal.

Zunächst ermittelten wir bei intraperitonealer, peroraler und intravenöser Injektion

(1) Für die freundliche Überlassung von Versuchsmengen der Pyrone M, DHM, K, DHK und Y danken wir der Firma Spezialchemie GmbH & Co., Arzneimittelfabrik, München. Versuchsproben von DMY wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. R. HÄNSEL, Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin, zur Verfügung gestellt.

für jedes Pyron mit mehreren Gruppen zu 10–45 Tieren den Zeitpunkt des Wirkungseintritts und des Wirkungsmaximums und weiterhin die Dauer der antikonvulsiven Wirkung. Für jeden geprüften Zeitpunkt wurde dabei eine neue Tiergruppe verwendet. Die ED_{60} wurde dann zum Zeitpunkt des Wirkungsmaximums für jedes Pyron mit mehreren Gruppen zu 10–20 Tieren bestimmt. Den mittleren Fehler (ϵ) berechneten wir nach MILLER u. TAINTER (18).

Zur Feststellung des Einflusses von Reserpin auf die antikonvulsive Wirkung der Kawa-Pyrone wurde den Tieren 4 std vor Applikation der Pyrone 1 mg/kg Reserpin (Serpasil) in physiol. NaCl intraperitoneal verabreicht.

Pentetrazolkrampf. Pentetrazol (Cardiazol) wurde in der konstanten Dosis von 115 mg/kg subcutan oder 50 mg/kg intravenös injiziert. Diese Dosen bewirkten bei etwa 50–60 % der Tiere einen maximal tonischen Streckkrampf. Die Pyrone und Vergleichssubstanzen wurden intraperitoneal vor der Injektion von Pentetrazol verabreicht. Das Zeitintervall zur Pentetrazolinjektion betrug bei den Pyronen, bei Phenobarbital und Diphenylhydantoin 30 min, bei Procain-HCl 10 min. In einigen Versuchen wurden sowohl die Pyrone als auch Pentetrazol intravenös injiziert; K wurde dabei 1 min, Y 2 min vor Pentetrazol verabreicht. Zur Feststellung des Krampfverlaufes saßen die Tiere in allen Versuchen in Einzelkäfigen. Die Beobachtungszeit nach der Pentetrazolinjektion betrug 1–2 std.

ERGEBNISSE

1. *Antagonistische Wirkung der Pyrone gegen den maximalen Elektroschock (MES) der Maus.*

a) *Wirkungsmaximum und Dauer der antikonvulsiven Wirkung bei verschiedenen Applikationsformen.*

Aus Abb. 1 sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Pyronen hinsichtlich der Wirkungsdauer und des Eintritts des Wirkungsmaximums bei peroraler Applikation annähernd äquieffektiver Dosen zu ersehen. Wir untersuchten K und DHK mit jeweils 150 mg/kg, M und DHM mit 70 mg/kg und Y mit 750 mg/kg. Diese Dosen bewirkten einen maximalen Krampfschutz von etwa 60–80 %.

K und DHK zeigten bereits 10 min nach Applikation ihr Wirkungsmaximum; die antikonvulsive Wirkung hielt aber nicht länger als 60 bzw. 40 min an. Dagegen erreichten M und DHM erst 45–60 min nach Applikation das Wirkungsmaximum. Die Wirkung nahm wesentlich langsamer ab und war erst nach 2–4 std nicht mehr nachweisbar. Aus der Abbildung ist ferner zu erkennen, daß die Pyrone K und M jeweils stärker und länger wirksam sind als die in 7,8-Stellung hydrierten Verbindungen DHK und DHM.

Y fällt im Vergleich zu den anderen Pyronen durch die zur antikonvulsiven Wirkung nötigen hohen Dosen und durch den späten Wirkungseintritt mit Wirkungsmaximum nach 2 std heraus. Von diesen beiden Besonderheiten ist die Verzögerung des Wirkungsmaximums

möglicherweise nur die Folge der schwächeren Wirkung, da die zur Erzielung einer Wirkung notwendigen hohen Dosen infolge der geringen Löslichkeit von Y in Öl nur in großen und dadurch resorptionshemmend wirkenden Volumina verabreicht werden konnten.

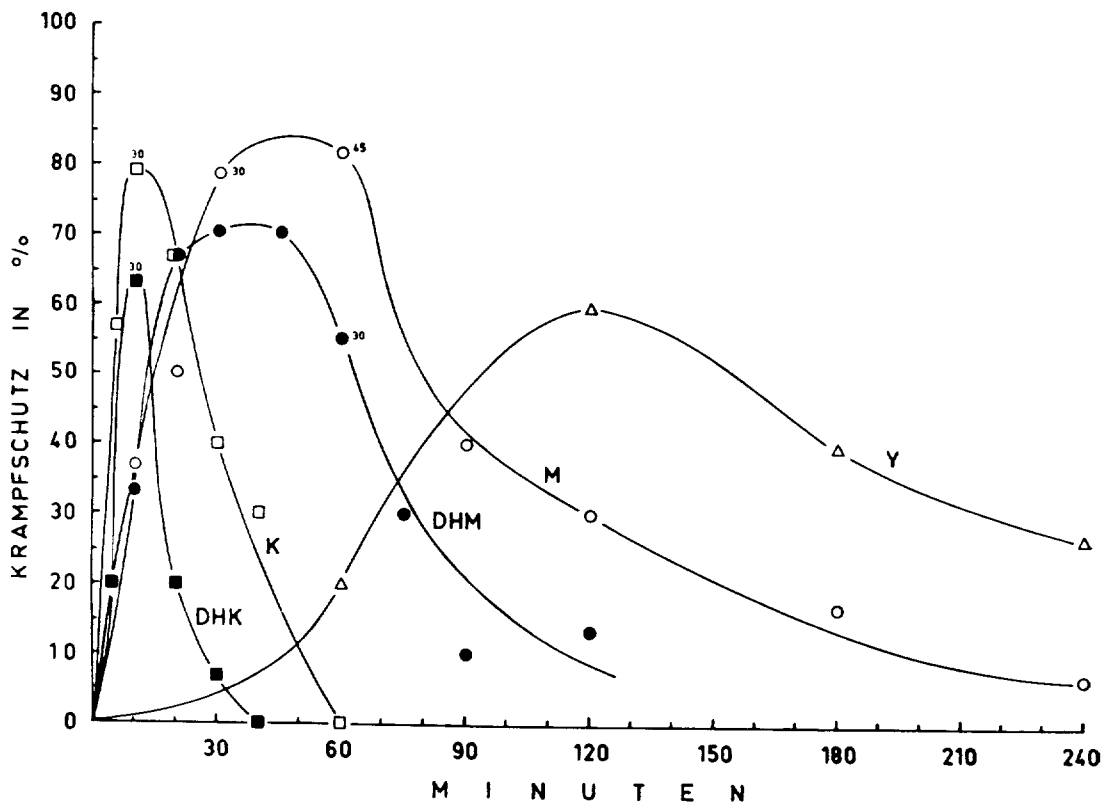


ABB. 1

Hemmung des maximalen Elektrokrampfes bei der Maus durch die Kawa-Pyrone M, DHM, K, DHK und Y bei peroraler Applikation.

Abszisse: Zeit in min nach Applikation.

Ordinate: Prozentsatz der geschützten Tiere.

Dosis bei M und DHM 70 mg/kg, bei K und DHK 150 mg/kg und bei Y 750 mg/kg. Verwendete Tierzahl pro Meßpunkt überwiegend 20; Abweichungen sind durch Zahlen an den Meßpunkten angegeben.

DMY, das auf der Abbildung nicht eingezeichnet ist, prüften wir infolge geringerer Versuchsmengen nur orientierend. Mit 400 mg/kg zeigte DMY bereits 20 min nach peroraler Applikation das Wirkungsmaximum. Die gewählte Dosis entspricht der ED_{50} .

Bei intraperitonealer Applikation ergaben sich bei den einzelnen Pyronen gleiche Unterschiede in der Wirkungsdauer wie bei peroraler Verabreichung. Die Kawaine K und DHK erreichten mit 70 bzw. 80 mg/kg das Wirkungsmaximum nach 15 min, die Methysticine M und DHM mit 30 bzw. 35 mg/kg nach 20 min. Die Wirksamkeit der Kawaine hielt etwa 60–90 min, diejenige der Methysticine etwa 120–150 min an.

DMY war mit 200 mg/kg 30 min nach Verabreichung und Y mit 1000 mg/kg 2 std nach Applikation maximal wirksam. Phenobarbital und Diphenylhydantoin als Vergleichssubstanzen hatten 30 min nach intraperitonealer Verabreichung ihr Wirkungsmaximum erreicht. Im Gegensatz zu den Kawa-Pyronen hielt die Wirkung aber plateauartig über 6–8 std an.

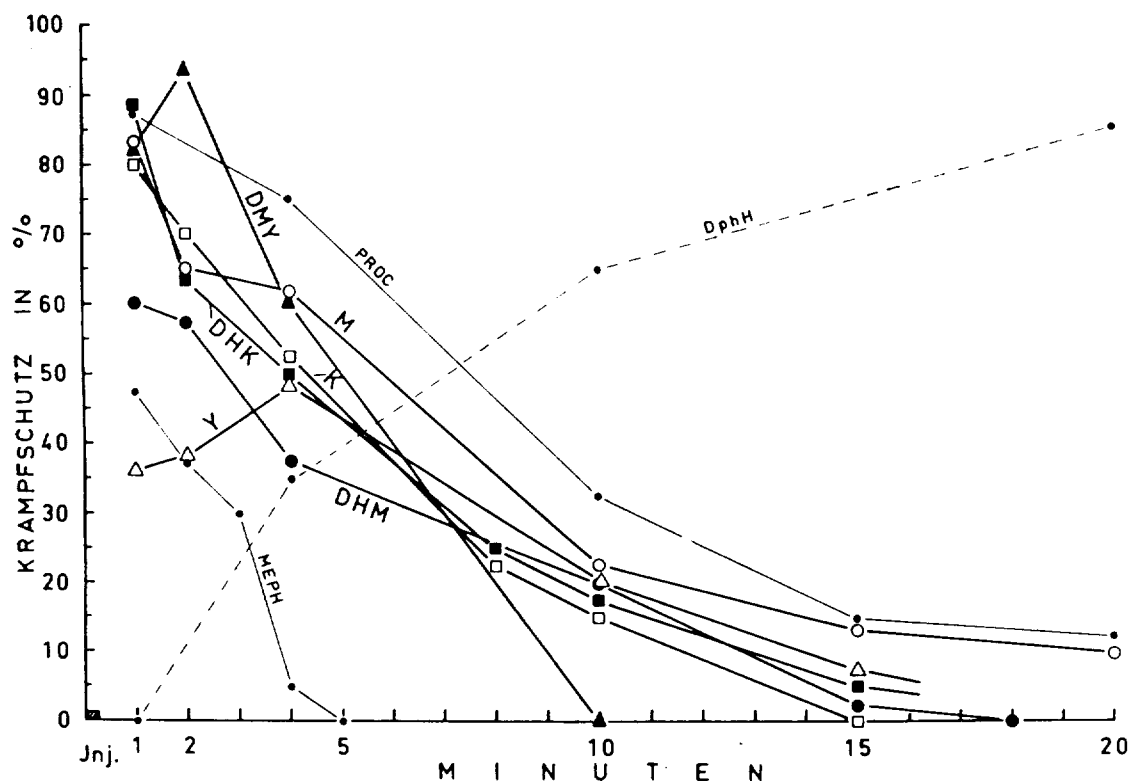


ABB. 2

Hemmung des maximalen Elektrokrampfes bei der Maus durch die Kawa-Pyrone M, DHM, K, DHK, DMY und Y sowie durch Mephesisin (Meph), Procain-HCl (Proc) und Diphenylhydantoin (DphH) bei intravenöser Applikation.

Abszisse: Zeit in min nach Injektionsbeginn.

Ordinate: Prozentsatz der geschützten Tiere.

Dosis bei allen Substanzen 10 mg/kg. Konstante Injektionsdauer von 15 sec. Tierzahl bei M und Y je 40, bei DphH je 10, bei allen übrigen Verbindungen je 20–30 pro Zeitpunkt.

Genauere Vorstellungen von der Eliminationsgeschwindigkeit der Pyrone sind durch intravenöse Injektionen zu erlangen, da der Einfluß der Resorption vermieden wird. Abb. 2 zeigt die Zeit-Wirkungsverläufe nach intravenöser Injektion von jeweils 10 mg/kg der Pyrone, von Diphenylhydantoin, Procain-HCl und Mephesisin.

Die Pyrone K, DHK, M und DHM erreichten unmittelbar nach Injektionsende das Maximum ihrer Schutzwirkung gegen den Elektroschock. Ihre Wirkung nahm im Verlauf von 15–20 min vollständig ab.

Die Wirkung war aber bei K eher abgeklungen als bei M, trotz gleicher maximaler Wirksamkeit unmittelbar nach Injektionsende. Dagegen unterschied sich DHM von DHK nur durch eine geringere maximale Wirksamkeit. Bei DMY und Y trat das Wirkungsmaximum später ein als bei den übrigen Pyronen (nach 2 bzw. 4 min). Die Wirkung hielt bei DMY aber deutlich kürzer an als bei allen anderen Pyronen. Procain verhielt sich qualitativ und auch quantitativ ähnlich wie die Kawa-Pyrone. Die antikonvulsive Wirksamkeit erreichte unmittelbar nach Injektionsende das Maximum und fiel innerhalb von 20–25 min ab. Mephesisin war dagegen deutlich schwächer und kürzer wirksam, zeigte aber einen ähnlichen Kurvenverlauf wie die Kawa-Pyrone und Procain. Demgegenüber hat Diphenylhydantoin einen völlig anderen Zeit-Wirkungsverlauf. Es erreichte erst 20 min nach der intravenösen Injektion das Wirkungsmaximum. Zu diesem Zeitpunkt war die antikonvulsive Wirkung der Pyrone abgeklungen.

b) Mittlere Schutzdosis gegen den MES und Toxizität bei verschiedenen Applikationsformen.

Die bei den verschiedenen Applikationsformen zum Zeitpunkt der maximalen Wirkung ermittelten ED_{50} -Werte der Pyrone und teilweise der Vergleichssubstanzen gegen den maximalen Elektroschock sind aus Tabelle I ersichtlich. Bei intraperitonealer und peroraler Verabreichung hat M von allen untersuchten Pyronen die stärkste antikonvulsive Wirkung. Der ED_{50} -Unterschied zwischen M und den Pyronen K, DHM und DHK ist bei intraperitonealer Gabe aber nur gering. M und K wirken jeweils stärker als die Dihydroverbindungen DHM und DHK, was bereits aus Abb. 1 hervorging. Im Gegensatz zu den in 5,6-Stellung hydrierten Kawa-Pyronen sind die im Lactonring vollständig ungesättigten Pyrone DMY und Y bei intraperitonealer und peroraler Applikation vergleichsweise nur sehr gering wirksam, wobei Y die geringste Wirksamkeit besitzt.

Bei intravenöser Injektion besteht dagegen zwischen den einzelnen Pyronen nur ein geringer Unterschied in der Wirksamkeit. Dabei fällt besonders die gute Wirkung von DMY und vor allem Y auf. DMY ist gleich wirksam wie DHK, K und M und Y nur etwa 2–3 mal schwächer. Bei intraperitonealer Gabe ist aber DMY etwa 6–10 mal und Y 40–50 mal schwächer wirksam als die 5,6-Dihydro-Pyrone. Hervorzuheben ist weiterhin, daß DHM in Übereinstimmung mit der intraperitonealen und peroralen Verabreichung auch bei intravenöser Gabe eine signifikant höhere ED_{50} als M hat ($0,05 > p > 0,02$). Dieser Unterschied besteht dagegen bei K und DHK nicht.

TABELLE I

Hemmung des maximalen Elektroschocks (MES) der Maus durch Kawa-Pyrone, Phenobarbital (Phb), Diphenylhydantoin (DphH), Procain-HCl (Proc) und Mephesisin (Meph) bei verschiedenen Applikationsformen. Angabe der ED₅₀ ± ε sowie in Klammern der jeweiligen Tierzahl (N) und des Zeitintervalls zwischen Applikation und Testung (I)

Substanz	Mittl. Schutzdosis gegen MES (ED ₅₀ ± ε) in mg/kg		
	i.v.	i.p.	oral
K	4,2 ± 0,31 (N = 235; I = 1 min)	21,3 ± 1,20 (N = 72; I = 15 min)	70,0 ± 4,80 (N = 75; I = 10 min)
DHK	3,4 ± 0,33 (N = 150; I = 1 min)	28,7 ± 3,49 (N = 72; I = 15 min)	98,0 ± 8,10 (N = 75; I = 10 min)
M	4,7 ± 0,29 (N = 400; I = 1 min)	19,0 ± 1,13 (N = 48; I = 20 min)	44,5 ± 4,29 (N = 60; I = 45 min)
DHM	6,2 ± 0,64 (N = 155; I = 1 min)	23,5 ± 1,42 (N = 72; I = 20 min)	60,5 ± 4,33 (N = 75; I = 45 min)
DMY	4,3 ± 0,44 (N = 245; I = 2 min)	180,0 ± 15,4 (N = 61; I = 30 min)	400,0 ± 46,50 (N = 46; I = 20 min)
Y	10,6 ± 0,47 (N = 415; I = 4 min)	1000,0 ± 130,0 (N = 48; I = 120 min)	740,0 ± 83,20 (N = 48; I = 120 min)
Phb	—	5,8 ± 0,38 (N = 50; I = 30 min)	—
DphH	5,1 ± 0,47 (N = 50; I = 20 min)	5,7 ± 0,45 (N = 50; I = 30 min)	—
Proc	7,2 ± 0,67 (N = 40; I = 1 min)	—	—
Meph	14,5 ± 1,28 (N = 40; I = 1 min)	—	—

Die zum Wirkungsvergleich bei intravenöser Applikation ermittelten ED₅₀-Werte von Diphenylhydantoin und Procain liegen in der gleichen Größenordnung wie diejenigen der Kawa-Pyrone, während Mephesisin schwächer wirksam ist. Bei intraperitonealer Verabreichung übertreffen Diphenylhydantoin und Phenobarbital die Pyrone an Wirksamkeit.

Aus Tab. II sind die bei den verschiedenen Applikationsformen ermittelten LD₅₀-Werte der Pyrone und teilweise auch der Vergleichs-substanzen ersichtlich. Die Tabelle zeigt weiterhin die aus LD₅₀/ED₅₀ im MES-Test errechneten Quotienten. Dieser Quotient liegt bei den

TABELLE II

Toxizität und Quotient aus LD₅₀/ED₅₀ der Kawa-Pyrone, von Phenobarbital (Phb), Diphenylhydantoin (DphH), Procain-HCl (Proc) und Mephesisin (Meph) bei verschiedenen Applikationsformen an der Maus. Angabe der jeweiligen Tierzahl (N) in Klammern

Sub- stanz	Mittl. letale Dosis (LD ₅₀ ± ε) in mg/kg			LD ₅₀ /ED ₅₀		
	i.v.	i.p.	oral	i.v.	i.p.	oral
K	69 ± 3,3 (N = 30)	420 ± 14,7 (N = 80)	1130 ± 41,3 (N = 40)	16,4	19,7	16,2
DHK	53 ± 1,5 (N = 38)	490 ± 15,2 (N = 80)	980 ± 52,0 (N = 45)	15,6	17,1	10,0
M	49 ± 1,7 (N = 50)	530 ± 29,9 (N = 60)	> 800 (1)	10,4	27,9	> 18
DHM	67 ± 4,2 (N = 36)	420 ± 20,0 (N = 80)	1050 ± 67,0 (N = 50)	10,8	17,9	20,8
DMY	55 ± 1,8 (N = 40)	> 800 (1)	> 800 (1)	12,8	—	—
Y	41 ± 1,4 (N = 55)	> 1500 (1)	> 1500 (1)	3,9	—	—
Phb	—	221 ± 6,7 (N = 40)	—	—	38,1	—
DphH	76 ± 5,6 (N = 40)	205 ± 19,2 (N = 54)	—	14,9	36,0	—
Proc	65 ± 1,9 (N = 30)	—	—	9,0	—	—
Meph	203 ± 7,4 (N = 40)	—	—	14,0	—	—

(1) = wegen geringer Löslichkeit nicht exakt zu ermitteln.

Pyronen mit Ausnahme von Y bei allen Applikationsformen über 10. Den höchsten Wert von allen Pyronen erreicht M bei intraperitonealer Verabreichung, während Y bei intravenöser Gabe den niedrigsten Quotienten besitzt. Der Quotient LD_{50}/ED_{50} ist bei intraperitonealer Gabe von Phenobarbital und Diphenylhydantoin, trotz ihrer niedrigeren LD_{50} , größer als bei den Pyronen. Bei intravenöser Injektion liegt der Quotient von Diphenylhydantoin, wie auch von Procain und Mephesisin, in der gleichen Größenordnung wie bei den Pyronen.

c) Antagonismus von Reserpin gegen die antikonvulsive Wirksamkeit der Kawa-Pyrone.

Aus Tab. III ist der Einfluß einer Reserpinvorbehandlung auf die mittleren Schutzdosen von M und K nach intraperitonealer und intravenöser Injektion zu ersehen.

TABELLE III

Antagonistische Wirkung von Reserpin auf die mittlere Schutzdosis von M bei intraperitonealer und K bei intravenöser Applikation gegen den maximalen Elektroschock (MES) der Maus

Pyron	Applikationsart	Zeitpunkt d. Testung nach Injektion in min	Reserpin ⁽¹⁾ mg/kg i.p.	Tierzahl	mittl. Schutzdosis ($ED_{50} \pm \epsilon$) gegen MES in mg/kg
M	i.p.	20	—	48	$19,0 \pm 1,13$
M	i.p.	20	1	40	$80,0 \pm 6,33$
K	i.v.	1	—	40	$4,0 \pm 0,31$
K	i.v.	1	1	40	$17,2 \pm 2,19$

⁽¹⁾ = Reserpinvorbehandlung (Serpassil) erfolgte 4 std vor Pyrongabe.

Die ED_{50} beider untersuchten Pyrone lag nach Vorbehandlung mit Reserpin um mehr als das 4fache höher als bei unvorbehandelten Tieren.

2. Beeinflussung von Pentetrazolkrämpfen durch Kawa-Pyrone.

In einer früheren Untersuchung (14) hatte sich gezeigt, daß die Pyrone DHM und DHK in niedrigen Dosen eine Förderung und erst in höheren Dosen eine Hemmung tonischer Pentetrazolkrämpfe be-

wirkten. Wie DHM und DHK verhalten sich aber auch die Pyrone M und K.

In Abb. 3 sind für DHM und M und weiterhin für Diphenylhydantoin, Phenobarbital und Procain-HCl als Vergleichssubstanzen die Dosis-Wirkungsbeziehungen bei der Beeinflussung des tonischen Pentetrazol-

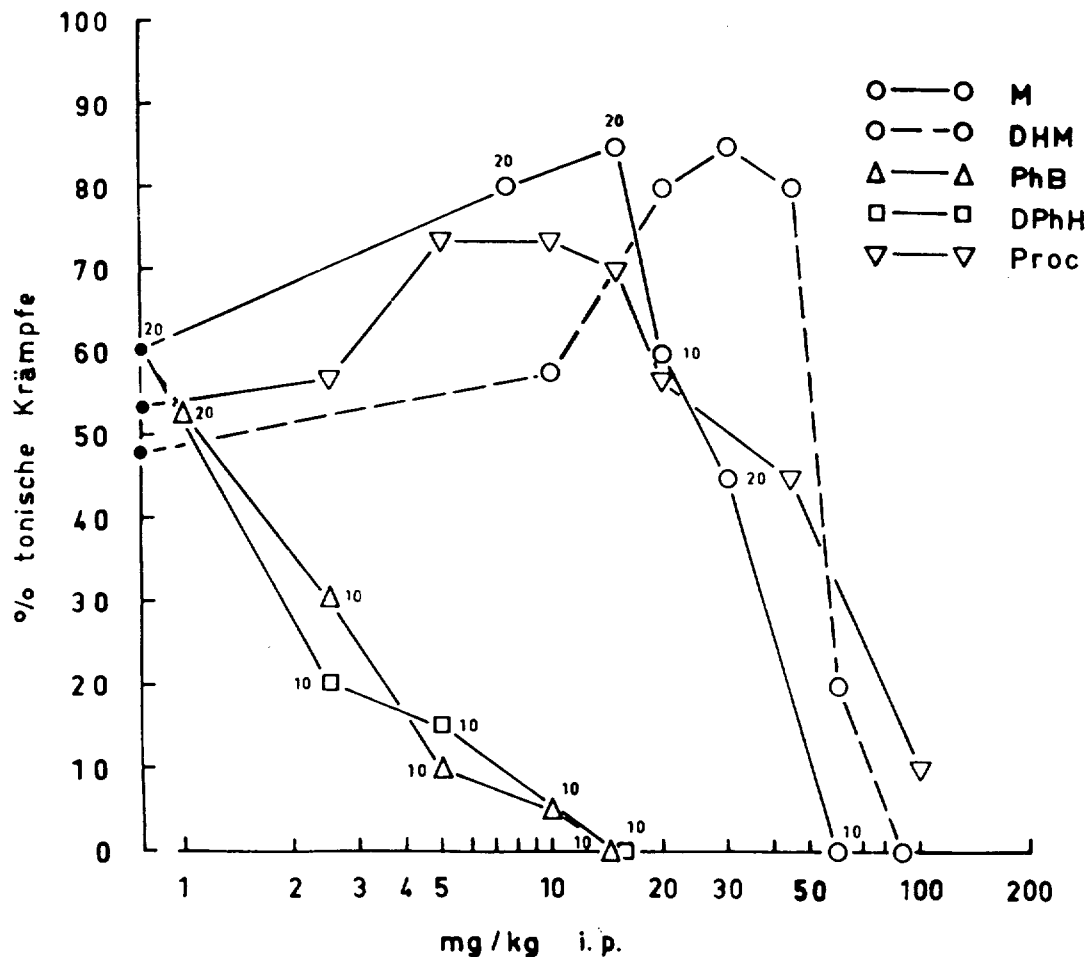


ABB. 3

Beeinflussung der mittleren Krampfschwelle für tonische Pentetrazolkrämpfe bei der Maus durch M, DHM, Procain-HCl (Proc), Phenobarbital (PhB) und Diphenylhydantoin (DphH).

Abszisse: Dosis der Antikonvulsiva in mg/kg intraperitoneal.

Ordinate: Prozentsatz der tonisch krampfenden Tiere nach 115 mg/kg pentetrazol s.c.

Angabe der jeweiligen Versuchstierzahl an den Meßpunkten, bei DHM und Procain-HCl jeweils 30 Tiere. Zeitintervall zwischen Applikation der Antikonvulsiva und von Pentetrazol bis auf Procain 30 min, bei Procain 10 min.

krampfes an der Maus wiedergegeben. Die verwendete Dosis von 115 mg/kg Pentetrazol subcutan bewirkte bei 50–60 % der unvorbehandelten Tiere einen maximal tonischen Krampf. Durch Vorbehandlung der Tiere mit M bzw. DHM bis zur Dosis von 15 bzw. 30 mg/kg

intraperitoneal nahm die Zahl tonisch krampfender Tiere bis maximal 80–85 % zu. Weitere Erhöhung der Pyrondosis bewirkte dann eine Abnahme der tonischen Krampfhäufigkeit. Durch 60 mg/kg M und 90 mg/kg DHM wurden tonische Krämpfe vollständig unterdrückt. Bei diesen Pyrondosen trat aber eine Verstärkung und Verlängerung klonischer Krampferscheinungen nach Pentetrazol auf. Einen ähnlichen Verlauf hat die Dosis-Wirkungskurve von Procain. 15 mg/kg Procain-HCl erhöhten die Zahl tonisch krampfender Tiere auf 73 %, durch höhere Dosen wurden tonische Krämpfe vermindert bzw. aufgehoben. In Übereinstimmung mit den Pyronen wurden durch hohe Dosen von Procain (50–100 mg/kg) klonische Pentetrazolkrämpfe verstärkt und verlängert.

Aus den Dosis-Wirkungskurven von Diphenylhydantoin und Phenobarbital gegen Pentetrazol ist zu erkennen, daß diese Antikonvulsiva im Gegensatz zu den Pyronen und Procain von der kleinsten von uns geprüften Dosis an eine zunehmende Hemmung der tonischen Krampfphase bewirken.

Qualitativ ähnlich wie M und DHM verhielten sich in entsprechenden Versuchen K und DHK. Durch 50 mg/kg K, 30 min vor Pentetrazol injiziert, erhöhte sich die Anzahl tonisch krampfender Tiere von 60 auf 90 %, während 100 mg/kg K eine völlige Hemmung der tonischen Krampfphase bei Intensivierung klonischer Krämpfe bewirkten. Die entsprechenden Dosen von DHK betragen 100 bzw. 200 mg/kg (14).

Y verhielt sich gegenüber Pentetrazolkrämpfen anders als die 5,6-Dihydro-Pyrone. Durch intraperitoneale Injektion bis zur Dosis von 1000 mg/kg Y wurden Pentetrazolkrämpfe nicht beeinflußt. Bei intravenöser Injektion bewirkte Y aber ebenfalls eine Hemmung tonischer Krämpfe, wenn Pentetrazol gleichfalls intravenös appliziert wurde. Ab 10 mg/kg verminderte Y die Zahl tonisch krampfender Tiere, 30 mg/kg verhinderten tonische Pentetrazolkrämpfe vollständig. Auffällig war jedoch, daß durch Y im Gegensatz zu den 5,6-Dihydro-Pyronen neben der Hemmung der tonischen Krampfphase auch klonische Krämpfe in Stärke und Häufigkeit reduziert, aber nicht aufgehoben wurden. K verstärkte dagegen auch bei intravenöser Injektion mit 15 mg/kg klonische Pentetrazolkrämpfe, während es tonische Krämpfe verhinderte.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Kawa-Pyrone DHM und DHK erwiesen sich in früheren Untersuchungen (14, 15) als antikonvulsiv wirksam, indem sie in geeigneten Dosen den tonischen Extensorenkrampf sowohl im Elektroschock als auch im Pentetrazolkrampf verhinderten. Die vorliegenden Unter-

suchungen zeigen, daß sich die Wirkung der Pyrone M, K, DMY und Y gegen den maximalen Elektroschock und bis auf Y auch gegen den Pentetrazolkrampf nicht qualitativ, sondern nur quantitativ von der Wirkung der Pyrone DHM und DHK unterscheidet.

In Übereinstimmung mit DHM und DHK werden durch M und K tonische Pentetrazolkrämpfe gehemmt, klonische Krampferscheinungen aber intensiviert. Die 5,6-Dihydro-Pyrone der Kawa-Wurzel verhalten sich damit wie Diphenylhydantoin (5, 22), so daß als Wirkungsmechanismus in Anlehnung an GOODMAN u. Mitarb. (5, 22) eine Hemmung der zentralnervösen Krampfausbreitung anzunehmen ist. Im Einklang damit steht der von uns erhobene Befund, daß die Kawa-Pyrone interneuronal blockierende Eigenschaften besitzen (16). Auch der starke Antagonismus von Reserpin gegen die antikonvulsive Wirksamkeit der Pyrone spricht für einen diphenylhydantoinähnlichen Wirkungsmechanismus. Nach CHEN u. Mitarb. (3, 4) hemmt Reserpin am stärksten Diphenylhydantoin von allen untersuchten Antikonvulsiva.

Nicht in Übereinstimmung mit Diphenylhydantoin stehen dagegen die 5,6-Dihydro-Pyrone in ihrer Eigenschaft, in einem eng begrenzten niedrigen Dosenbereich tonische Pentetrazolkrämpfe zu fördern und diese erst in höheren Dosen zu hemmen. Bei Diphenylhydantoin und auch Phenobarbital haben wir eine Krampfförderung in niedrigen Dosen nicht finden können. Die Wirkung der Pyrone gegen Pentetrazol gleicht aber im gesamten Dosis-Wirkungsverlauf der Wirkung von Procain, das gleichfalls in niedrigen Dosen tonische Krämpfe förderte und diese erst in höheren Dosen hemmte. Die Übereinstimmung mit Procain spricht dafür, daß das antikonvulsive Wirkungsbild der Pyrone allgemein demjenigen der Lokalanaesthetica (2, 21) ähnelt, zumal wir eine lokalanaesthetische Wirksamkeit bei den Kawa-Pyronen nachweisen konnten (12). Die Wirkungsdauer der Pyrone bei den verschiedenen Applikationsformen, insbesondere das sofort nach Ende der intravenösen Injektion erreichte Wirkungsmaximum, entspricht auch unseren Befunden mit lokalanaesthetisch wirksamen Verbindungen wie Procain, Mephenesin, aber auch Benzocain und Cocain (17). Zwischen der lokalanaesthetischen und antikonvulsiven Wirkungsstärke lassen sich aber keine direkten Beziehungen finden (vgl. 12).

Das im Lactonring vollständig ungesättigte Kawa-Pyron Y unterschied sich von den 5,6-Dihydro-Pyronen in der Wirkung gegen Pentetrazol, indem es auch die klonische Krampfphase hemmte und damit ähnlich wie Phenobarbital wirkte (5, 22). Jedoch wurden bis zur höchsten geprüften Y-Dosis klonische Pentetrazolkrämpfe nie vollständig aufgehoben.

Die Ergebnisse im MES-Test erlauben Rückschlüsse auf die absolute Wirkungsstärke und die Resorptions- und Eliminationsgeschwindigkeit der Pyrone. Da wir bei intravenöser Injektion sofort nach Injektionsende die Wirksamkeit ermittelten, sind die dabei gewonnenen Ergebnisse nicht nur frei von Einflüssen der Resorption, sondern auch weitgehend von denen der Elimination. Von den in 7,8-Stellung hydrierten Produkten DHM und DHK hat nur DHM bei intravenöser Injektion eine schwächere Wirkung als das nicht hydrierte Produkt (M). Bei intraperitonealer und peroraler Gabe ist auch DHK schwächer wirksam als das nicht hydrierte Produkt (K). Die schwächere Wirkung von DHK im Vergleich zu K bei diesen beiden Applikationsformen ist vermutlich die Folge einer unterschiedlichen Resorptions- und oder Eliminationsgeschwindigkeit. Eine eindeutige Klärung der Ursache kann auf Grund unserer Befunde nicht erfolgen, da sowohl der Eintritt des Wirkungsmaximums bei intraperitonealer und peroraler Gabe als auch der Wirkungsabfall nach intravenöser Injektion bei beiden Pyronen in gleicher Dosierung übereinstimmt.

Die stärkere Wirkung von M im Vergleich zu K bei peroraler Gabe läßt eine höhere Eliminationsgeschwindigkeit von K vermuten. Beide Pyrone sind bei intravenöser Injektion gleich wirksam. Die Wirkung nimmt aber bei K rascher ab als bei M (ABB. 2). Dagegen scheint die Resorption von K sogar schneller abzulaufen als von M, wie der raschere Wirkungseintritt bei peroraler Applikation zeigt (ABB. 1). Als Ursache der schwächeren Wirkung von K ist vermutlich ein stärkerer Abbau noch während der Resorptionsphase anzunehmen. Die am Benzolring bei M vorhandene Dioxymethylen-Gruppe bewirkt demzufolge eine verzögerte Resorption und wahrscheinlich einen erschwerten Abbau des Moleküls.

Überraschend war die gute antikonvulsive Wirkung von Y und DMY bei intravenöser Injektion im Vergleich zur intraperitonealen und peroralen Applikation. Der Wirkungsvergleich von K und DMY bei intravenöser Verabreichung zeigt, daß die antikonvulsive Wirksamkeit des Kawa-Pyronmoleküls durch Dehydrierung des Lactonringes nicht vermindert wird. Bei intraperitonealer und peroraler Gabe ist aber die Wirkung von DMY im Vergleich zu K erheblich geringer, was wahrscheinlich die Folge einer geringeren Resorptionsgeschwindigkeit ist, wie die zeitliche Lage des Wirkungsmaximums nach der Injektion zeigt. Darüberhinaus ist auch eine schnellere Elimination anzunehmen, da der Wirkungsabfall bei intravenöser Injektion im Vergleich zu den anderen Pyronen sehr viel schneller erfolgte. Bei Y, das sich nur durch eine Methoxygruppe am Benzolring von DMY unterscheidet, ist die

bei intravenöser Injektion ermittelte Wirksamkeit im Vergleich zu DMY etwas geringer, bei intraperitonealer und peroraler Gabe aber erheblich schwächer. Dieser Wirkungsunterschied kann vor allem auf eine im Vergleich zu DMY geringere Resorption des Y-Moleküls zurückgeführt werden. Der Abbau von Y scheint dagegen im Vergleich zu den übrigen Pyronen nicht wesentlich verzögert zu sein, da wir bei intraperitonealer und peroraler Applikation etwa nach 20–30 min eine Gelbverfärbung des Urins beobachteten, die auf die Y-Zufuhr zurückzuführen ist.

Aus den Befunden im MES-Test geht somit hervor, daß die strukturellen Unterschiede innerhalb der Pyrongruppe für die Wirksamkeit bei intravenöser Injektion nur von geringer Bedeutung sind. Wesentlich stärker ist der Einfluß der Strukturunterschiede auf die Resorptions- und auch die Eliminationsgeschwindigkeit der Verbindungen. Dabei spielen sowohl der Hydrierungsgrad als auch die Art der Substitution am Benzolring eine entscheidende Rolle. In weiteren Versuchen haben wir den Einfluß des Hydrierungsgrades auf die Wirksamkeit der Kawa-Pyrone durch Untersuchung synthetischer Pyronderivate genauer geprüft und werden an anderer Stelle darüber berichten.

ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe des maximalen Elektroschocks und des Pentetrazolkrampfes wurden an Mäusen Untersuchungen über die antikonvulsive Wirksamkeit der 5,6-Dihydro- α -Pyrone Methysticin (M), Dihydromethysticin (DHM), Kawain (K) und Dihydrokawain (DHK) und der α -Pyrone Yangonin (Y) und Desmethoxyyangonin (DMY) aus *Piper methysticum* Forst durchgeführt. Phenobarbital, Diphenylhydantoin, Mephenesin und Procain waren Vergleichssubstanzen. Folgende Ergebnisse wurden erhalten :

1) Sowohl gegen den maximalen Elektroschock (MES) als auch gegen den Pentetrazolkrampf gleicht die Wirkung der 5,6-Dihydro- α -Pyrone im Hinblick auf Wirkungsdauer und Beeinflussung des Krampfablaufes derjenigen von lokalanaesthetisch wirksamen Verbindungen und unterscheidet sich dabei von der Wirkung der klassischen Antikonvulsiva Phenobarbital und Diphenylhydantoin.

2) Charakteristisch für die antikonvulsive Wirkung der Kawa-Pyrone ist die Hemmung des tonischen Streckkrampfes im Elektroschock und in ausreichenden Dosen auch des Pentetrazolkrampfes, wobei es beim Pentetrazolschock übereinstimmend mit Diphenylhydantoin zu einer Intensivierung der klonischen Krampfphase kommt.

3) Die antikonvulsive Wirkung der Kawa-Pyrone wird durch Vorbehandlung mit Reserpin deutlich abgeschwächt.

4) In Übereinstimmung mit Procain führen kleine Pyrondosen zu einer Erhöhung der Zahl tonisch krampfender Tiere nach Pentetrazol.

5) Die antikonvulsive Wirkung von Y und DMY gleicht im wesentlichen derjenigen von M, DHM, K und DHK. Die klonische Krampfphase im Pentetrazolschock wurde aber durch Y nicht intensiviert, sondern gering abgeschwächt.

6) Die Unterschiede zwischen den wirksamen Dosen der untersuchten Kawa-Pyrone sind bei intravenöser Applikation nur gering, während sie bei intraperitonealer und peroraler Verabreichung deutlicher hervortreten. Insbesondere waren hierbei DMY und Y erst in erheblich höheren Dosen antikonvulsiv wirksam als die 5,6-Dihydro- α -Pyrone. Zum Zeitpunkt der maximalen Wirksamkeit ergibt sich die Wirkungsstärke der Pyrone bei intraperitonealer und peroraler Applikation in der Reihenfolge $M > DHM \sim K > DHK \gg DMY > Y$.

7) Die quantitativen Unterschiede zwischen den einzelnen Pyronen bei intraperitonealer und peroraler Gabe werden als Folge der verschiedenen Resorptions- und Eliminationsgeschwindigkeiten im Zusammenhang mit Hydrierungsgrad und Substitution der Moleküle diskutiert.

SUMMARY

Comparative studies on the anticonvulsant activity of the pyrone compounds of Piper methysticum Forst.

In convulsions on mice elicited by maximal electroshock (MES) and by pentylenetetrazol the anticonvulsant activity of 5,6-dihydro- α -pyrones methysticin (M), dihydro-methysticin (DHM), kavain (K), and dihydrokavain (DHK), and of the α -pyrones yangonin (Y) and desmethoxyyangonin (DMY), isolated from Piper methysticum Forst, has been examined. Comparative investigations with phenobarbital, diphenylhydantoin, mephenesin, and procaine were made. The following results have been obtained:

1) The six pyrones of the kava-rootstock are all pharmacologically effective, differences in action are largely quantitative in nature.

2) With regard to the duration of action and the influence on the seizure pattern the anticonvulsant activity of the 5,6-dihydro- α -pyrones against maximal electroshock as well as against the pentylenetetrazol convulsions resembles that of local anaesthetic compounds and differs from the action of the anticonvulsants phenobarbital and diphenylhydantoin.

3) In adequate doses an inhibition of the maximum tonic extensor seizure response elicited by maximal electroshock and by pentylenetetrazol and an intensification of the clonic seizure response to pentylenetetrazol characterize the anticonvulsant activity of the pyrones.

4) In lower doses the pyrones, like procaine, have a weak facilitating effect on the tonic extensor phase of pentylenetetrazol convulsions.

5) Pretreatment with reserpine antagonizes the anticonvulsive action of the pyrones.

6) The anticonvulsive action of Y and DMY against maximal electroshock resembles that of the 5,6-dihydro- α -pyrones. In convulsions by pentylenetetrazol Y also inhibited the tonic extensor phase, but there was no intensification of the clonic seizure phase in high doses of Y, rather a small inhibition.

7) When administered intravenously the differences between the effective doses of the investigated pyrones are only small, whereas the differences were found greater when given intraperitoneally or orally. The effective doses of DMY and Y in particular were higher than those of 5,6-dihydro- α -pyrones. When administered intraperitoneally and orally the anticonvulsant activity decreased in the following sequence: $M > DHM \sim K > DHK \gg DMY > Y$.

8) When given intraperitoneally and orally the quantitative differences between the effective doses of the pyrones are the consequence of a different rate of absorption and partially of elimination. These differences in pharmacokinetics are probably based on the different substitution and hydrogenation of the pyrone molecules.

LITERATUR

1. — BERGER, F. M. und BRADLEY, W. *Brit. J. Pharmacol.*, 1946, *1*, 265.
2. — BERNHARD, C. G., BOHM, E. und WIESEL, T. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1956, *108*, 392.
3. — CHEN, G., ENSOR, C. R. und BOHNER, B. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1954, *86*, 507.
4. — CHEN, G. und ENSOR, C. R. *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1954, *87*, 602.
5. — GOODMAN, L. S., GREWAL, M. S., BROWN, W. S. und SWINYARD, E. A. *J. Pharmacol.*, 1953, *108*, 168.
6. — HÄNSEL, R. und BEIERSDORFF, H. U. *Arzneim.-Forsch.*, 1959, *9*, 581.
7. — HÄNSEL, R., WEISS, D. und SCHMIDT, B. *Planta Medica*, 1966, *14*, 1.
8. — KELLER, F. und KLOHS, M. W. *Lloydia*, 1963, *26*, 1.
9. — KLOHS, M. W., KELLER, F., WILLIAMS, R. E., TOEKES, M. I. und CRONHEIM, G. E. *J. med. pharmaceut. chem.*, 1959, *1*, 95.
10. — KRETZSCHMAR, R. und MEYER, H. J. *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1965, *251*, 134.
11. — KRETZSCHMAR, R., MEYER, H. J. und CHRISTOFFEL, P. in Vorbereitung.
12. — MAY, H. U. und MEYER, H. J. *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1965, *250*, 273.

13. — MEYER, H. J. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1962, 138, 505.
14. — MEYER, H. J. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1964, 150, 118.
15. — MEYER, H. J. und MEYER-BURG, J. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1964, 148, 97.
16. — MEYER, H. J. und KRETZSCHMAR, R. *Klin. Wschr.*, 1966, 44, 902.
17. — MEYER, H. J. Habilitationsschrift, Freiburg i.Br., 1966.
18. — MILLER, L. C. und TAINTER, M. L. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N.Y., 1944, 57, 261.
19. — SPIEGEL, E. A. *J. Lab. clin. Med.*, 1937, 22, 1274.
20. — SWINYARD, E. A., BROWN, W. C. und GOODMAN, L. S. *J. Pharmacol.*, 1952, 106, 319.
21. — TANAKA, K. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N.Y., 1955, 90, 192.
22. — TOMAN, J. E. P. und GOODMAN, L. S. *Physiol. Rev.*, 1948, 28, 409.
23. — VAN VEEN, A. G. *Geneesk. Tijdschr. Nederl. Indië*, 1938, 78, 1941.
24. — ZÖLLNER, B. Med. Dissertation, Freiburg i.Br., 1966.