

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Farbwerke Hoechst.

## Über ein neues Leitungsanaesthetikum der „Nirvanin“-Reihe mit großer Entgiftungsgeschwindigkeit (Hostacain).

Von

LEOPOLD THER.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. April 1953.)

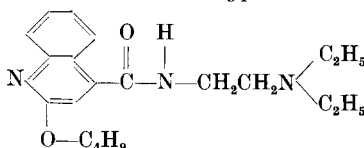
Die Tatsache, daß das Novocain (Procain) als Infiltrations- und Leitungsanaesthetikum seine große praktische Bedeutung vor allem seiner geringen Giftigkeit verdankt, hat uns veranlaßt, unter zahlreichen lokalanaesthetisch wirksamen Stoffen verschiedenster chemischer Konstitution nach einem Leitungsanaesthetikum zu suchen, welches das Novocain in bezug auf *Schnelligkeit des Eintritts* und *Tiefe der lokalanaesthetischen Wirkung* übertrifft, ohne daß die Verstärkung der Wirkung — wie dies leider bei vielen Mitteln unseres Arzneimittelschatzes der Fall ist — durch Erhöhung der Toxizität erkaufte wird. Die in der Regel zu beobachtende enge Beziehung zwischen Toxizität (bei intravenöser Injektion!) und Wirkung (als Leitungsanaesthetikum) ließ es zwar zunächst als Utopie erscheinen, nach einem im Vergleich zu Novocain stärker wirksamen Leitungsanaesthetikum zu suchen, das eine geringere Toxizität als Novocain aufweist, da ja die lebenswichtigen nervösen Zentren in ähnlicher Weise wie der periphere Nerv betroffen werden. Allerdings muß man eine Annahme gelten lassen, nämlich die, daß Präparate zu finden sind, die verschieden rasch vom Organismus eliminiert werden und so bei richtiger Anwendung (bei subcutaner Injektion!) auf irgend eine Weise *schneller ausgeschieden oder zerstört werden*. Wenn die Entgiftung im Organismus sehr rasch erfolgt, so besteht die Möglichkeit, daß bei subcutaner Anwendung, die eine langsame Resorption garantiert, im Blut nicht die Konzentration erreicht wird, die zu einer allgemeinen Vergiftung führt. Erfolgt die Entgiftung außerdem erst im Blut oder in den Organen (Leber), so bleibt am Applikationsort die durch das Leitungsanaesthetikum hervorgerufene Analgesie vollkommen *unbeeinflusst*.

Die geringe Giftigkeit von Novocain und anderen lokalanaesthetisch wirksamen Estern beruht auf der Spaltung, die das Molekül im Organismus durch Esterasen erfährt; die Spaltungsgeschwindigkeit und das Schicksal der Spaltprodukte sind eingehend studiert worden. Über das Schicksal der Lokalanaesthetica, bei denen die Seitenkette mit dem

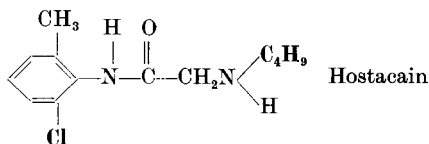
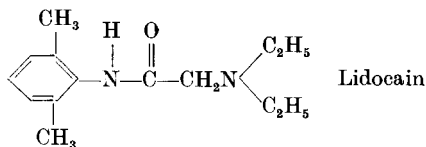
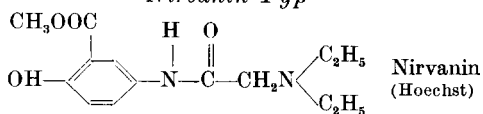
aromatischen Kern durch eine „Peptid“-ähnliche Bindung verknüpft ist, wissen wir wenig. Die Lokalanaesthetica mit einer Peptid-ähnlichen Bindung lassen sich grundsätzlich in 2 Typen einteilen:

1. solche, bei denen der aromatische Kern die Carboxylgruppe trägt (*Typus Percain*) und
2. solche, bei denen die Aminogruppe am aromatischen Teil des Moleküls steht (*Typus Nirvanin*).

*Percain-Typ*



*Nirvanin-Typ*



Bereits vor 50 Jahren haben die Chemiker EINHORN und OPPENHEIMER das Nirvanin, ein stark wirksames, relativ wenig giftiges Lokalanaesthetikum, synthetisiert, das vom Pharmakologen HEINZ (Erlangen) untersucht wurde und gegenüber dem damals allgemein gebräuchlichen Cocain zahlreiche Vorzüge aufwies; erst 1946 hat LOEFGREN erneut diesen Verbindungstypus aufgegriffen und zahlreiche Verbindungen hergestellt, die zum Teil ebenfalls beachtliche lokalanaesthetische Wirkungen zeigten, wenn auch — wie im Falle des Lidocain — die Verstärkung der Wirkung im Vergleich zu Procain mit einer wesentlichen Erhöhung der Toxizität einhergeht.

Die Stabilität der — *HNCO* — Bindung bringt sicherlich nicht nur Vorteile; wahrscheinlich beruht das geringe Eliminationsvermögen des Organismus für Lidocain darauf (HARNISCH), daß es entweder nur in ganz geringem Ausmaß oder überhaupt nicht von den Fermenten des Körpers gespalten wird. Die Stabilität der — *HNCO* — Bindung im Organismus, die von MC MAHON und WOODS für das Lidocain sichergestellt wurde,

ist deshalb nicht überraschend, da ja GRASSMANN<sup>1</sup> gezeigt hat, daß ein Substrat (z. B. ein Dipeptid) nur dann durch Fermente (Dipeptidasen) gespalten wird, *wenn bestimmte chemische Konfigurationen erfüllt sind*. Da bei einer bestimmten chemischen Konstitution die Möglichkeit einer fermentativen Spaltung eines Lokalanaesthetikums vom Nirvanin-Typus bestand, haben wir zahlreiche Substanzen, die in unseren pharmazeutischen Laboratorien unter der Leitung von Prof. EHRHART von den Chemikern Dr. AUMÜLLER, Dr. STEIN und Dr. RUSCHIG synthetisiert wurden, nicht nur auf ihre lokalanaesthetische Wirkung, sondern auch auf ihre Entgiftungsgeschwindigkeit untersucht und gefunden, daß ein Präparat, das *Hostacain* (Hoechst 13233), den von uns gestellten Anforderungen entsprach. Hostacain, dessen chemische Formel wir oben wiedergegeben haben, ist das Hydrochlorid des  $\omega$ -n-Butylamino-essigsäure-2-methyl-6-chloranilid; das Hydrochlorid ist ein weißes kristallinisches Pulver. Sein Schmelzpunkt beträgt 232°; es ist in Wasser neutral löslich und wird durch Kochen in Wasser nicht zersetzt. Über seine pharmakologischen Eigenschaften wird in den folgenden Kapiteln berichtet.

Um ein Maß für die Größe der Eliminationsgeschwindigkeit der untersuchten Lokalanaesthetica zu erhalten, haben wir die *intravenöse Dauerinfusion* als unmittelbare Methode zur Bestimmung der Entgiftungsgeschwindigkeit gewählt und nicht das häufig zur Bewertung der Eliminationsgeschwindigkeit herangezogene Verhältnis derjenigen Dosen eines Mittels, die bei subcutaner und intravenöser Injektion den Tod herbeiführen; nur zu häufig können Wechselbeziehungen zwischen chemischer Substanz und Gewebe am Applikationsort (Ausfällungen, Reizerscheinungen) eine Entgiftung dort vortäuschen, wo in Wirklichkeit eine Resorptionsverzögerung vorliegt. Da wir nach einem *Leitungsanaesthetikum* suchten, kamen als pharmakologische Testreaktionen nur solche Methoden in Frage, die eine quantitative *Abschätzung der Wirkung als Leitungsanaesthetikum* gestatten. Die häufig zur Bewertung herangezogene Prüfung am Kaninchenaug nach REGNIER gibt in diesem Fall keine zuverlässigen Resultate, da das Leitungsanaesthetikum Novocain bei Prüfung nach dieser Methode von zahlreichen belanglosen Stoffen übertroffen wird, ohne daß dieser Werteinstufung die geringste Bedeutung zukommt<sup>2</sup>, weil Leitungsanaesthetica, wie schon FROMHERZ vor 25 Jahren berichtete, nicht mit einer Methode zur Bestimmung der oberflächenanaesthetischen Wirkung bewertet werden dürfen.

### I. Die lokalanaesthetische Wirkung.

Die Prüfung erfolgte zunächst am freipräparierten *Froschischiadicus* dekapitierter Frösche, weil diese einfache Methode in der Hand des mit ihr Vertrauten sehr gute Resultate gibt. Kleine Wattestückchen wurden zu diesem Zweck mit der jeweils zu untersuchenden Lösung getränkt und schonend um den Ischiadicusnerv gelegt. Durch leichtes Kneifen der Zehen, das alle 3 min erfolgte, wurde die Zeit bis zum

<sup>1</sup> FLASCHENTRÄGER: Physiologische Chemie I. Springer Verlag, Berlin 1951.

<sup>2</sup> Zur Frage der Methodik haben wir in der Z. Arzneimittelf. 3, 345 (1953) ausführlich Stellung genommen.

Eintritt einer vollkommenen Unterbrechung der nervösen Leitung festgestellt. Die Ergebnisse, welche an einem großen Tiermaterial gewonnen wurden, haben wir in der Abb. 1 graphisch dargestellt. Die Verteilungskurven werden erhalten, wenn man in ein Koordinatensystem als Abszisse die Zeit und als Ordinate den Prozentsatz der Versuche aufträgt, bei denen innerhalb einer bestimmten Zeit die nervöse Leitung erloschen war.

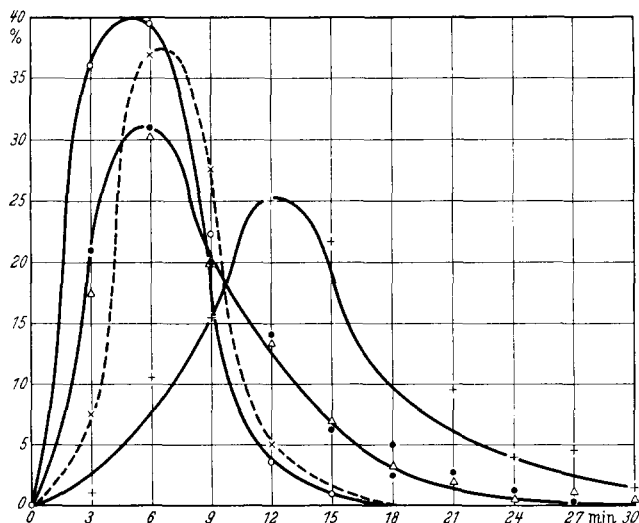


Abb. 1. Wirkung der Lokalanästhetika Pantocain (0,05%)  $\times \times \times$ , Lidocain (0,25%)  $\triangle \triangle \triangle$ , Hostacain (0,25%)  $\circ \circ \circ$ , Procain (1%)  $\bullet \bullet \bullet$  und Procain (0,5%)  $++$  auf die Unterbrechung der nervösen Leitung im Froschischiadikus. Abszisse Zeit, innerhalb welcher bei einem bestimmten Prozentsatz der Versuche (Ordinate) die Leitung unterbrochen ist.

Obwohl kein einheitliches Tiermaterial (in bezug auf Geschlecht und Tiergröße) verwendet wurde, liegen annähernd Normalverteilungen vor. Die am weitesten nach links verschobene Hostacain-Kurve wurde aus 170 Versuchen mit einer 0,25%igen Hostacain-Lösung ermittelt; sie zeigt, daß bereits bei 75% der Tiere innerhalb von 6 min eine vollkommene Leitungsunterbrechung eingetreten ist; Versuche mit einer gleich konzentrierten (und ungefähr auch gleich molaren) Lidocain-Lösung zeigten ebenso wie Versuche mit einer 1%igen Procain-Lösung, daß in der gleichen Zeit von 6 min nur in etwa 50% ein Erlöschen der sensiblen Leitung festgestellt werden konnte. Die Kurve mit der 0,25%igen Lidocain-Lösung wurde aus 348 Versuchen, die Kurve der 1%igen Procain-Lösung aus 289 Versuchen und die Kurve der 0,5%igen Procain-Lösung, die am weitesten nach rechts verschoben ist, aus 200 Versuchen ermittelt. Nach wie vor zeigt das Pantocain als Leitungsanaesthetikum die rascheste Eintrittsgeschwindigkeit; eine 0,05%ige Pantocain-Lösung besitzt die Wirkung einer 0,25%igen Lidocain- und einer 1%igen Procain-Lösung. Wenn man die Konzentration der Lösung, die in einer bestimmten Zeit die nervöse Leitung unterbricht, als Maß für die Wirkungsstärke eines Lokalanästhetikums zugrunde legt, ist das Hostacain dem Procain in diesem Test am Froschischiadicus deutlich überlegen und übertrifft sogar das Lidocain.

Als eine weitere Methode zur quantitativen Einstufung der Leitungsanaesthetica wurde eine von uns seit langem als brauchbar erwiesene „Alles oder Nichts“-Methode am Mäuseschwanz<sup>1</sup> herangezogen. Diese Methode berücksichtigt zum Unterschied vom Test am Froschischiadicus die Durchblutungsverhältnisse am lebenden Säugetier. Jedes Tier einer Gruppe von 10 Mäusen wurde zunächst auf seine Schmerzempfindlichkeit mit der bekannten Brennstrahl-Methode geprüft. Die Lampe wurde so eingestellt, daß unbehandelte Tiere innerhalb einer

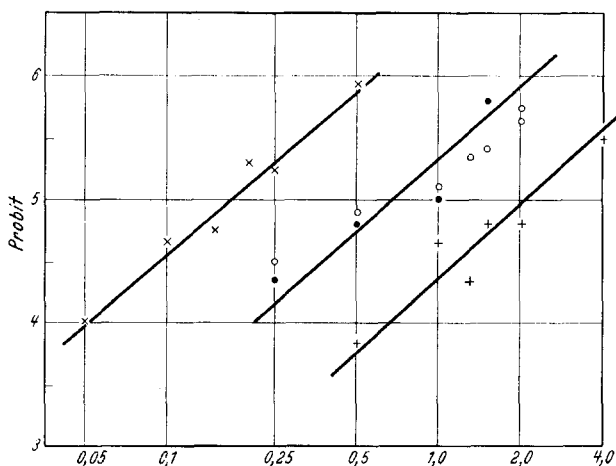


Abb. 2. Wirkung der Lokalanästhetika Pantocain  $\times \times \times$ , Hostacain  $\circ \circ \circ$ , Lidocain  $\bullet \bullet \bullet$  und Procain  $+$   $+$   $+$  im Mäuseschwanztest. Injizierte Menge  $0,1 \text{ cm}^3$ . Abszisse: log-Konz. in %. Ordinate: Prozentsatz der Mäuse, bei denen die Schmerzempfindung ausgeschaltet ist.

Zeitspanne von 10 sec den Schmerzreiz mit einer Schmerzreaktion beantworteten. Das Leitungsanaesthetikum ( $0,1 \text{ cm}^3$ ) wurde nach der Vorprüfung bilateral in die Gegend der Schwanzwurzel injiziert, um die dort verlaufenden Nerven zu blockieren. 10 min nach dieser Injektion erfolgte die Prüfung der Schmerzempfindung in gleicher Weise wie bei der Vorprüfung; die Brennstellen lagen etwa 1,5 cm distal von der Injektionsstelle. Als „positiv“ wurden alle Tiere bewertet, die in diesem Versuch eine Brenndauer von 15 sec aushielten, ohne eine Schmerzreaktion zu zeigen. Aus der Prozentzahl der „positiv“ reagierenden Tiere (Gesamtzahl der Versuchstiere = 100) lassen sich „probit“-Werte berechnen, die als Ordinate, zur log-Konzentration als Abszisse in Abb. 2 graphisch dargestellt wurden.

<sup>1</sup> Siehe Anmerkung S. 302. Eine Methode zur Auswertung der Lokalanästhetika am Rattenschwanz wurde von F. HERR und Mitarb. in Naunyn-Schmiedeberg's Arch. 217, 307 (1953) bereits vor unserer Mitteilung (Arzneimittelf. 3, 346 (1953) veröffentlicht.

Auch mit dieser Methode erwies sich das Pantocain als das stärkste der untersuchten Leitungsanaesthetica. Es übertrifft das Standardpräparat Procain, das erst in etwa 10facher Konzentration die gleiche Wirkung hervorruft. Die Hostacain- und Lidocain-Werte streuen um eine Gerade. Man kann die beiden Leitungsanaesthetica Hostacain und Lidocain als gleich stark wirkend annehmen. Sie übertreffen beide etwa um das  $2\frac{1}{2}$ fache bis  $3\frac{1}{2}$ fache die Wirkungsstärke des Procains, ein Befund, der sich mit den Untersuchungen von HERR u. Mitarb. deckt.

Die Messung der *infiltrationsanaesthetischen Wirkung* wurde an der Meerschweinchenquaddel durchgeführt<sup>1</sup>. Als Versuchstiere dienten 250 bis 300 g schwere Meerschweinchen, denen je  $0,1 \text{ cm}^3$  der Lösung des Leitungsanaesthetikums bilateral symmetrisch in die Haut der Flanke

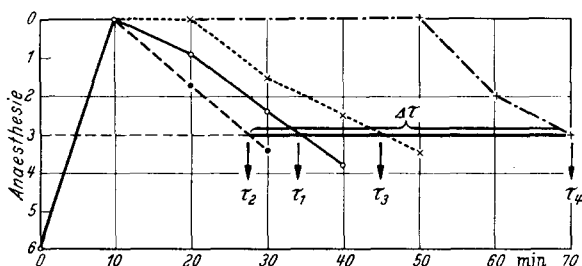


Abb. 3. Bestimmung der Anaesthesiedauer einer Meerschweinchenquaddel durch Ermittlung der Halbwertszeit  $\tau$ ;  $\tau_1$  = Procain 0,5%;  $\tau_2$  = Hostacain 0,1%;  $\tau_3$  = Hostacain 0,25%. Mittelwertskurven aus 12 Versuchen an 36 Tieren.  $\tau_4$  = Hostacain 0,1% + Suprarenin  $0,2 \gamma/0,1 \text{ cm}^3$ .  $\Delta\tau = (\tau_4 - \tau_2)$  ist die Verlängerung der Anaesthesiedauer durch Suprarenin.

als intracutane Quaddel injiziert wurde. Die Prüfung erfolgte in Abständen von 10 min. Die Dauer der anaesthetischen Wirkung wurde durch graphische Bestimmung der Halbwertszeit  $\tau$  ermittelt, die wir als diejenige Zeit definierten, welche vom Beginn der Injektion der Quaddel bis zu dem Zeitpunkt verstreicht, in dem von 6 Stichreizen (mit einer 12er Nadel) bereits 3 „positiv“, d. h. mit Quietschen von den Tieren beantwortet wurden. Zu jedem Versuch wurden 3 Meerschweinchen verwendet. In Abb. 3 ist als Abszisse die Zeit, auf der Ordinate eine Wirkungsskala aufgetragen, in der 0 vollkommene Anaesthesie und 6 vollkommene Empfindlichkeit bedeutet. Im ersten Falle wurde von 6 Stichreizen kein einziger, im zweiten Falle wurden von 6 Stichreizen alle 6 mit einer Schmerzreaktion beantwortet.

Aus Abb. 3 geht hervor, daß eine 0,1% ige Hostacain-Lösung ( $\tau_2$ ) annähernd die Wirkung einer 0,5% igen Procain-Lösung ( $\tau_1$ ) erreicht. Eine 0,25% ige Hostacain-Lösung führt bereits zu einer wesentlich länger andauernden Anasthesie ( $\tau_3$ ). In der Abb. 4 haben wir als Ordinate die  $\tau$ -Werte, als Abszisse die Konzentration des applizierten Lokalanaesthetikums graphisch dargestellt. Jeder Punkt dieser Kurve wurde aus

<sup>1</sup> Siehe Anmerkung S. 302.

Mittelwerten (3 Tiere) gebildet. An Hand des Kurvenverlaufs kann ähnlich wie beim Pantocain und Novocain gezeigt werden, daß mit Erhöhung der Konzentration die Anaesthesiedauer nur in einem bestimmten Dosenbereich zunimmt, und daß oberhalb desselben auch eine Vervielfachung der Dosierung keine Verlängerung der Anaesthesiedauer mehr bewirkt<sup>1</sup>. Aus den Versuchen mit Hostacain, die in Abb. 4 wiedergegeben sind, geht hervor, daß bereits bei einer Konzentration von 0,25% das Maximum der Anasethesiedauer erreicht wird.

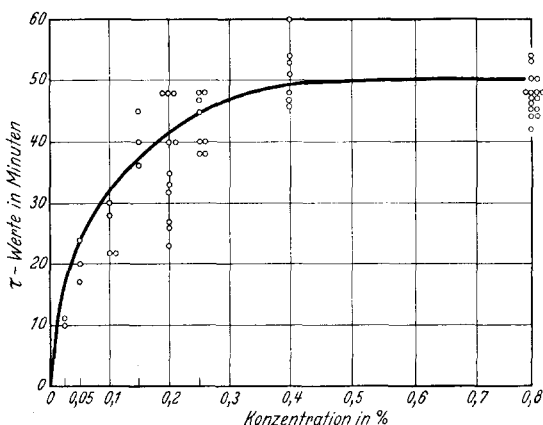


Abb. 4. Abhängigkeit der Anaesthesiedauer von der Konzentration der Hostacain-Lösung. ( $\tau$ -Werte gemessen an der Meerschweinchenquaddel.)

Eine Verlängerung über dieses Maximum der Anaesthesiedauer hinaus ist nur durch Zusatz eines gefäßkontrahierenden Stoffes zu erreichen.

Um den Einfluß der *gefäßkontrahierenden Stoffe* kennenzulernen, haben wir Versuche an der Meerschweinchenquaddel mit verschiedenen konzentrierten Hostacain-Lösungen (0,1, 0,2, 0,4%) durchgeführt, denen verschieden große Suprarenin-Mengen zugesetzt wurden. Als  $\Delta\tau$  bezeichneten wir (s. Abb. 3) die durch den gefäßkontrahierenden Stoff bedingte zusätzliche Verlängerung der Anaesthesiedauer. Auch diese Versuche zeigten, daß *unabhängig* von der Konzentration der Hostocain-Lösung die Anaesthesiedauer nur in einem bestimmten Dosenbereich mit der Menge des zugesetzten gefäßkontrahierenden Stoffes zunimmt. Aus Abb. 5 geht hervor, daß mit dem Zusatz von 2  $\gamma$  Suprarenin zu 0,1 cm<sup>3</sup> der Lösung bereits das Maximum (d. h. eine zusätzliche Verlängerung  $\Delta\tau$  der Anaesthesie von etwa 90 min) bei allen angewendeten Hostacain-Lösungen erreicht ist und daß bei einer weiteren Verstärkung des Suprarenin-Zusatzes keine wesentliche Verlängerung der Anaesthesiedauer mehr zu erzielen ist, wohl aber mit einer Erhöhung der Toxizität des Hostacain-Suprarenin-Gemisches gerechnet werden muß.

Nachdem die Untersuchungen über die leitungs- und infiltrationsanaesthetische Wirkung ergeben hatten, daß Hostacain die Wirkung

<sup>1</sup> Die Dosen-Wirkungsbeziehung der Lokalanaesthetica wird an anderer Stelle besprochen.

des Procains um ein Vielfaches übertrifft, war es sehr überraschend, daß es an der Kaninchen-Cornea nicht einmal die Wirkung von Procain erreicht. Nach der Methode von REGNIER an der Kaninchen-Cornea (Abb. 6) erwies sich Hostacain als nur etwa  $\frac{1}{2}$  so stark wirksam wie Procain und stellt demnach *kein Oberflächenanaesthetikum* dar. Den Anspruch, ein brauchbares Oberflächenanaesthetikum zu sein, darf zunächst keines der Präparate der Nirvanin-Reihe erheben, auch wenn einige von ihnen im REGNIER-Test das Procain übertreffen. Seit der Einführung

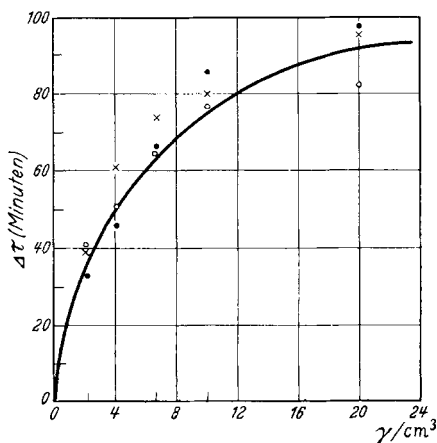


Abb. 5.

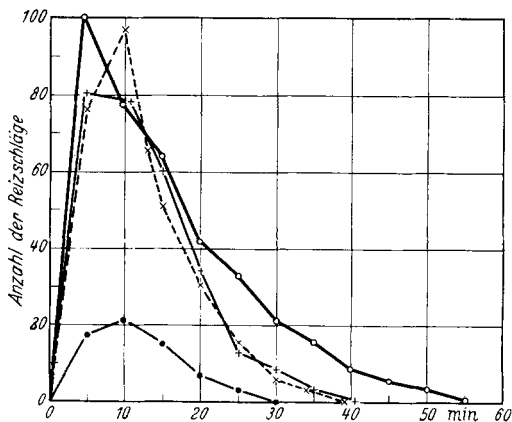


Abb. 6.

Abb. 5. Abhängigkeit der durch Suprarenin-Zusatz bedingten Verlängerung der Anaesthesiedauer (Ordinate) von der Suprarenin-Konzentration (Abszisse). Versuche an der Meerschweinchenquaddel. Hostacain 0,4% ○○○, 0,2% ×××, 0,1% •••

Abb. 6. Bestimmung der oberflächenanaesthetischen Wirkung nach REGNIER am Kaninchenauge. Pantocain 0,01% ○○○, Procain 1% +++, Hostacain 1% •••, und 2% ×××

des Pantocain haben sich alle Präparate, die nicht die gleiche Wirkungsstärke wie dieses Standardpräparat der Oberflächenanaesthesie besitzen, in der Klinik als mehr oder weniger untauglich erwiesen. Bei den hohen Anforderungen, die die Chirurgie und andere Disziplinen an ein Oberflächenanaesthetikum stellen, muß von vornherein jedes Mittel ausscheiden, das nicht die Wirkungsstärke des Pantocain erreicht.

## II. Toxizität.

Neben der Bestimmung der lokalen Wirkungsstärke haben wir der Ermittlung der Toxizität besondere Sorgfalt gewidmet. Zur Bestimmung der absoluten Toxizität wählten wir die *intravenöse Injektionstechnik* an der weißen Maus, weil diese von der Resorptionsgeschwindigkeit unabhängig ist. Die Injektion wurde mit möglichst gleichmäßiger Geschwindigkeit vorgenommen. Zum Vergleich an unserem Mäusematerial



(20–30 g schwere Mäuse beiderlei Geschlechts) wurden Lidocain, Pantocain und Procain herangezogen. In Abb. 7 sind die Versuche graphisch dargestellt; als Abscisse ist die log-Dosis, als Ordinate der Prozentsatz der getöteten Tiere (Probit-Einheiten) aufgetragen. Als  $LD_{50}$  ließen sich für Pantocain etwa 10 mg/kg, für Lidocain und Hostacain etwa 35 mg/kg und für Procain etwa 75 mg/kg ermitteln. Vergleicht man Abb. 7 mit Abb. 2, so sieht man, daß bei der intravenösen

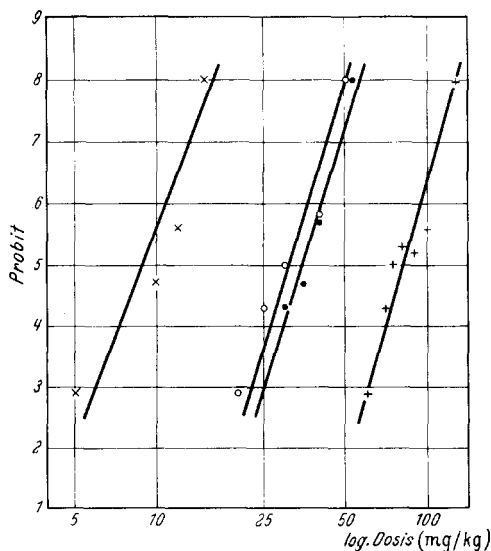


Abb. 7. Bestimmung der Toxizität an der weißen Maus nach intravenöser Injektion.  
Pantocain  $\times \times \times$ , Hostacain  $o o o$ , Lidocain  $\bullet \bullet \bullet$ , Procain  $+++$ .

Toxizität und der leitungsanaesthetischen Wirkung die gleiche Reihenfolge der untersuchten Stoffe vorliegt, da ja der periphere Nerv in ähnlicher Weise wie die lebenswichtigen Zentren von der Anaesthetie betroffen wird. Das Wirkungsverhältnis ist:

$$\text{Pantocain} > \text{Lidocain} \approx \text{Hostacain} > \text{Procain}.$$

Man könnte nun erwarten, daß auch die *subcutane* Toxizität, die ebenfalls an Mäusen bestimmt wurde, ein ähnliches Wirkungsverhältnis zeigen würde. Es war überraschend (Abb. 8), daß bei dieser Applikationsart das Hostacain in seiner Toxizität nicht mehr dem Lidocain, sondern dem Procain gleich. Die Reihenfolge in bezug auf toxische Wirkung war:

$$\text{Pantocain} > \text{Lidocain} > \text{Procain} = \text{Hostacain}.$$

Wenn ein Präparat wie das Hostacain, das sich als Leitungsanaesthetikum in allen Tests um ein Vielfaches stärker erwiesen hat als das

Procain, bei subcutaner Applikation sogar etwas weniger toxisch als das Procain war, so muß in diesem Falle entweder die Resorptionsgeschwindigkeit bedeutend verlangsamt oder die Entgiftungs- geschwindigkeit bedeutend beschleunigt sein. Untersuchungen an 77 Kaninchen haben ergeben, daß das Hostacain sehr rasch aus dem Organismus entfernt wird und allein dadurch seine geringe Giftigkeit bei subcutaner Injektion erklärt werden kann.

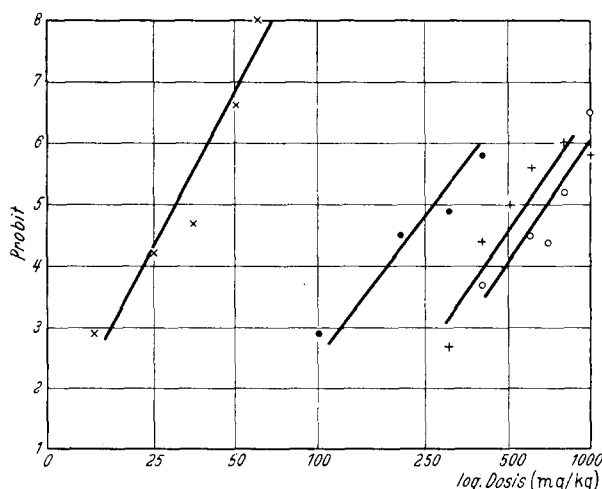


Abb. 8. Bestimmung der Toxizität an der weißen Maus nach subcutaner Injektion.  
Pantocain x x x, Lidocain • • •, Hostacain o o o, Procain + + +.

Als Maßstab für die Entgiftungsgeschwindigkeit haben wir, um unabhängig von der unkontrollierbaren Resorption subcutaner Depots zu sein, am Kaninchen die *intravenöse Dauerinfusion* gewählt. Für das Pantocain hat bereits SCHAUMANN in seiner grundlegenden Arbeit eine Entgiftungsfähigkeit des Organismus mit 0,15 mg/kg und Minute festgestellt. Diese Dosis wird von den Tieren stundenlang ohne bleibende Schädigung vertragen. Höhere Dosen, bereits 0,2 mg/kg und Minute, führen zum Tod. Nach den Untersuchungen von HARNISCH liegt die Lidocain-Dosis, bei welcher die Tiere zugrunde gehen, bei 1 mg/kg und Minute. Vom Novocain werden nach SCHAUMANN größere Dosen vertragen. Die tödliche Novocain-Grenzdosis wurde von SCHAUMANN mit 3 mg/kg und Minute angegeben; 2 mg/kg und Minute werden vertragen. In diesen und anderen uns zugänglichen Arbeiten haben wir bei den Untersuchungen über Entgiftungsgeschwindigkeit eine statistische Auswertung der Versuchsergebnisse vermißt.

Da wir bei unseren Untersuchungen über die Entgiftung von Hostacain kein einheitliches Tiermaterial, sondern Kaninchen verschiedenen Geschlechts von 2—3,5 kg verwendeten, mußten wir, zur Ausschaltung von Streuungen, die durch die Tiervariationen bedingt sind, wiederum die bewährte „*Alles oder Nichts*“-Methode anwenden. Nachdem Vorversuche ergeben hatten, daß Hostacain gut entgiftet wird, haben wir eine Gesamt-

dosis von 200 mg/kg als *Grenzdosis* festgelegt; in der Minute wurde 1 cm<sup>3</sup> injiziert. Mit der Steigerung der pro Minute injizierten Konzentration des Lokalanaesthetikums (0,5 mg/kg bis 12 mg/kg) nahm die Anzahl der Versuchstiere, die bereits unterhalb dieser Grenzdosis von 200 mg starben, zu. Dabei wurden diejenigen Versuche als „positiv“ gewertet, bei denen die Tiere bereits unterhalb der Dosis von 200 mg/kg während der Infusion zugrunde gingen. Aus der Gesamtzahl der Versuchstiere und den „positiv“ reagierenden Tieren lassen sich Prozentzahlen er-

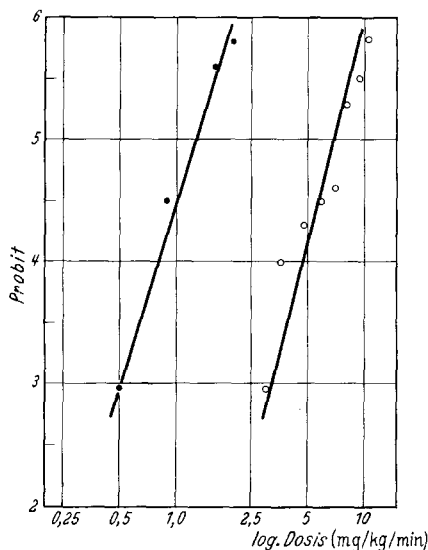


Abb. 9.

Bestimmung der Entgiftungsgeschwindigkeit von Hostacain  $\circ\circ\circ$  und Lidocain  $\bullet\bullet\bullet$  durch intravenöse Dauerinfusion am Kaninchen. Abszisse: log Dosis der pro Minute injizierten Menge (mg/kg); Ordinate: Prozentsatz der Tiere, die unterhalb einer Grenzdosis von 200 mg/kg getötet wurden. (Probit-Werte.)

mitteln. Werden Probit-Werte dieser Prozentzahlen als Ordinate, der log-Dosis der pro Minute injizierten Menge als Abszisse in ein Koordinatensystem eingetragen, so erhält man Dosenwirkungskurven. Zum Vergleich wurde am gleichen Tiermaterial auch das Lidocain untersucht. Abb. 9 läßt erkennen, daß *Hostacain etwa 5mal rascher entgiftet wird als das Lidocain*.

Das *Vergiftungsbild* bei Verabfolgung extrem hoher Dosen gleicht bei allen untersuchten Tierarten (s. Abschnitt IV) dem bekannten Vergiftungsbild der Lokalanaesthetica. Es kommt je nach der Dosis zu Lähmungserscheinungen und Krämpfen. Die Krämpfe treten allerdings nicht so sehr in Erscheinung wie wir sie nach der Injektion von Lidocain, Procain und Pantocain beobachten können. Auffallend ist, daß die Tiere sich sehr rasch er-

holen. Bei tödlichen Dosen wird das Atemzentrum gelähmt.

Um das Verhalten des *Blutdruckes* bei der Hostacain-Vergiftung (Abb. 10) zu studieren, erhielten Kaninchen (in Pernokton-Narkose) verschiedene Dosen intravenös injiziert. 3 mg/kg i. v. führten noch zu keiner wesentlichen Veränderung des Blutdruckes. 9 mg/kg führten zu einem Blutdruckabsturz, der jedoch nur kurze Zeit anhält. Den gleichen Blutdruckabfall rief bereits eine Menge von 3 mg/kg Pantocain hervor. Die Wirkung des Pantocain auf den Blutdruck ist aber vor allem dadurch gekennzeichnet, daß die Erholung hier wesentlich weniger rasch erfolgt.

Am *isolierten Meerschweinchenvorhofpräparat* wirkt das Hostacain noch in einer Verdünnung 1:200000 (in HERZ-RINGER) negativ chronotrop und negativ inotrop. Es erfolgt jedoch auch bei höheren Dosen keine bleibende Herzschädigung; wird

das Hostacain entfernt, so erholt sich das Präparat spontan. Versuche an Kaninchen, die pro Kilogramm 2 cm<sup>3</sup> einer 2%igen Lösung subcutan erhielten, ließen keine Änderung des *Blutzuckerspiegels* erkennen. Eine am Kaninchen durch Pyrogenwasser hervorgerufene *Temperatursteigerung* ließ sich auch durch größere Dosen 80 mg/kg s. c.) nicht beeinflussen.

*Lokal* in das intracutane Zellgewebe des Kaninchenohres appliziert, führt das Präparat zu einer geringen Rötung der Injektionsstelle ohne Schwellung. Die Kaninchen-Cornea wurde durch Einträufeln einer 2%igen Lösung nicht geschädigt, die Bindehaut des Auges nicht gereizt.

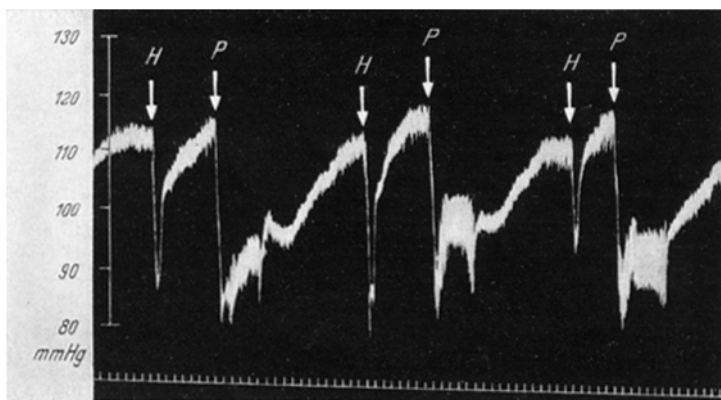


Abb. 10. Kaninchen (2,7 kg) in Pernokton-Narkose; Hg-Blutdruckmessung. Wirkung von Hostacain (H) 9 mg/kg i. v. und Pantocain (P) 3 mg/kg i. v. Zeit: Minuten.

Da in der letzten Zeit häufig die *bakteriostatische Wirkung* als besonderer Vorteil einiger Lokalanästhetica hingestellt wurde, haben wir das Hostacainhydrochlorid auch in dieser Hinsicht geprüft. Die Versuche wurden im chemotherapeutischen Laboratorium der Farbwerke Hoechst von Dr. ROLLY durchgeführt. Als Test diente *Staphylokokkus aureus* 209 P, dessen Atmung in der WARBURG-Apparatur vor und nach Zugabe einiger Lokalanästhetica gemessen wurde. Sowohl bei der Ruhe-Atmung in 1%igem Natriumlactat als auch in der Wachstumsphase ließ das Hostacain ein deutliches Absinken der Atmung erkennen, wenn zu 2,5 cm<sup>3</sup> Bakterienkultur im WARBURG-Trog 0,5 cm<sup>3</sup> der 2%igen Lösung hinzugefügt wurden. *Novocain* und sein *p-Aminosalicylsäure-derivat* zeigten in gleicher Konzentration keine Wirkung. Bemerkenswert ist, daß die bakteriostatische Wirkung des Hostacain in Serumbouillon stärker als in gewöhnlicher Bouillon in Erscheinung trat.

### III. Entgiftungsmechanismus.

Auf Grund der chemischen Konstitution des Hostacain war anzunehmen, daß die *Ausscheidung* durch den Harn erfolgt. Harnanalysen (HÄUSSLER u. THER)<sup>1</sup> ergaben, daß die applizierte Substanz nicht wesentlich als solche ausgeschieden wird. Hostacainhydrochlorid gibt mit wäßriger Salpetersäure-Lösung (1:1) ein in Alkohol unlösliches

<sup>1</sup> Die ersten Untersuchungen wurden im analytischen Laboratorium der Farbwerke Hoechst von Dr. BÜRGER durchgeführt.

Nitrat, dessen charakteristische Kristalle zum qualitativen Nachweis für Hostacain geeignet sind. Während das ganze Molekül nicht nachgewiesen werden konnte, ließ sich im Harn einiger Versuchstiere, die große Mengen (s. Abschn. IV) appliziert bekamen, bereits durch den Geruch die Anwesenheit eines aromatischen Spaltproduktes nachweisen. In einigen Harnen konnte durch Ausschütteln mit Äther o-Chlorotolidin als Nitrat nachgewiesen werden. Dieses unterscheidet sich vom Hostacain-Nitrat durch folgende Eigenschaft: Beim Erwärmen mit Salpetersäure auf 100—120° zersetzt es sich unter Verfärbung.

Weitere Beobachtungen des Harnes von Versuchstieren (Ratten und Kaninchen), die größere Mengen Hostacain erhalten hatten, ergaben, daß sich beim Stehen nach einigen Tagen durch bakterielle Einwirkung ein braunroter Farbstoff im Gegensatz zum Harn der Kontrolltiere, bildet. Wird dieser verfärbte Versuchsharn mit Natronlauge gekocht und dann mit Äther ausgeschüttelt, so erscheint in der ätherischen Schicht ein violett-roter Farbstoff mit stark rosa-roter Fluorescenz. Eine weitere Farbreaktion des Versuchsharns wurde beobachtet, wenn man diesen mit HCl kocht und einige Tropfen  $H_2O_2$  hinzufügt. Es entsteht eine dunkelbraune Verfärbung des Harnes, wobei gleichzeitig ein stark aromatischer kresolähnlicher Geruch auftritt. Durch Ätherreaktion in saurem Medium kann eine dunkelbraune sirupartige Masse isoliert werden, die im Kontrollharn nicht nachgewiesen werden kann.

Nachdem wir durch Nachweismethoden festgestellt hatten, daß der aromatische Teil von Hostacain durch den Harn ausgeschieden wird, mußte dieser, wenn er als aromatisches Amin vorliegt, auch diazotierbar und kupplungsfähig sein. Die daraufhin angestellten Versuche ergaben z. B. folgendes: 1 cm<sup>3</sup> Harn eines Kaninchens, das Hostacain (25 cm<sup>3</sup>/kg einer 2%igen Lösung) innerhalb eines Zeitraumes von 1½ Std subcutan erhalten hatte, wurde mit 5 Tropfen konzentrierter HCl gekocht, abgekühlt und in Eiswasser gestellt. Nach der Abkühlung auf ca. 0° wurde der Harn mit 1 Tropfen n-Natriumnitritlösung versetzt und das diazotierte Produkt in eine stark sodaalkalische R-Salzlösung gegossen. Es erfolgte augenblicklich die Bildung eines roten *Azofarbstoffes*. Versuche mit Kontrollharn verliefen negativ, auch Versuche mit Hostacainhydrochlorid. Dagegen ergab eine wäßrige Lösung von Orthochlorotolidin die gleiche Farbreaktion.

Nachdem die Harnanalyse den Nachweis erbracht hatte, daß Hostacain im Organismus gespalten wird, führten wir, um den Mechanismus der Spaltung kennenzulernen, Versuche *in vitro* mit verschiedenen Geweben durch. Dabei ergab sich, daß Hostacain durch *Leberbrei* in weit stärkerem Maße gespalten wird als durch Nierengewebe, Blut und Muskelbrei. Den Nachweis haben wir mit Hilfe folgender Methoden geführt:

1. *Biologisch durch Messung der Abnahme der lokalanaesthetischen Wirkung einer Hostacain-Lösung*, die bei Zimmertemperatur mit wäßrigem Leberbreiextrakt (Herstellung siehe unten) inkubiert wurde. Zu

diesen Versuchen wurden 9 Teile wäßriger Leberextrakt mit 1 Teil einer 2%igen Lösung des Lokalanästhetikums versetzt. Die infiltrationsanaesthetische Wirkung des Gemisches wurde an der Meerschweinchenquaddel (siehe oben) nach bestimmten Inkubationszeiten von 5 und

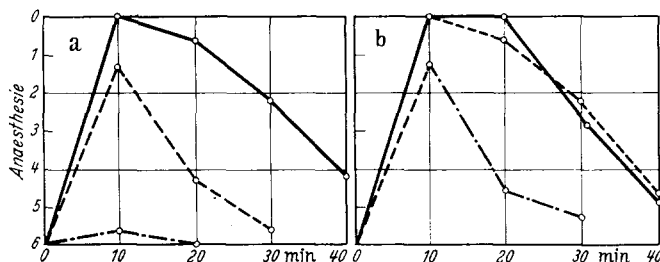


Abb. 11. Wirkung von Hostacain (a) und Lidocain (b) an der Meerschweinchenquaddel. Konzentration der Lösungen 0,2%. Kontrollversuche (ohne Leberextrakt)  $\circ$ — $\circ$ ; Versuche mit Leberextrakt: Inkubationszeit (5 min)  $\circ$ - -  $\circ$ ; Inkubationszeit (80 min)  $\circ$ - · -  $\circ$ .

60 min gemessen. In Abb. 11 sind die Versuche mit Hostacain (a) und Lidocain (b) wiedergegeben.

2. *Chemisch durch Bestimmung der bei der Spaltung freiwerdenden Säure.* Die Titration erfolgt nach der Methode von WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ. 50 g Leberbrei wurden mit 150 cm<sup>3</sup> m/15 Phosphatpufferlösung (pH 7,3) versetzt und 20 min bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren wurde dekantiert und zu je 12 cm<sup>3</sup> der abgegossenen Flüssigkeit 8 cm<sup>3</sup> einer 2%igen Lösung des Lokalanästhetikum zugegeben. Nach verschiedenen lang anhaltenden Inkubationszeiten bei 37° (0, 15, 30, 60, 120, 180 min) wurde die Fermentreaktion durch Zugießen von 20 cm<sup>3</sup> 96%igen Alkohols unterbrochen. Die Titration erfolgte mit einer m/15 KOH-Lösung und Thymolphthalein als Indicator. Aus der folgenden Abb. 12 ist die wesentlich größere Spaltungsgeschwindigkeit des Hostacain im Vergleich zu Lidocain ersichtlich. Der Ausgangswert (bei 1 min) wurde mit 100% angesetzt.

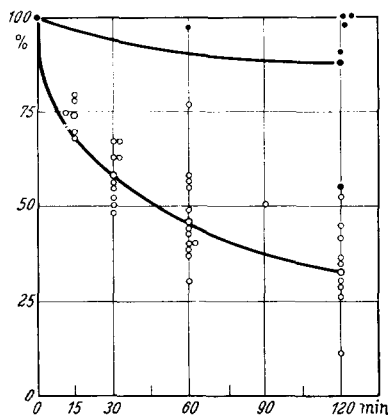


Abb. 12. Wirkung von Leberbrei auf die Lokalanästhetica Hostacain  $\circ$   $\circ$   $\circ$  und Lidocain  $\bullet$   $\bullet$   $\bullet$ . Zeitlicher Verlauf der enzymatischen Spaltung.

Diese beiden Untersuchungen zeigen, daß Hostacain durch ein *Ferment der Leber* bei einem pH von 7,3 gespalten wird.

#### IV. Untersuchungen über die Wirkung der Hostacain-Spaltprodukte.

Nachdem auf Grund von Versuchen *in vitro* feststand, daß das Präparat in der Leber durch Fermente gespalten wird, galt es den Nachweis zu bringen, daß auch die Spaltprodukte, vor allem der aromatische Teil, nicht toxisch wirken. Von ganz besonderer Bedeutung müssen daher die Versuche sein, die an Hunden, Katzen, Kaninchen und Ratten gezeigt haben, daß auch nach vielfach wiederholten Injektionen in den Organen der Versuchstiere keine Schädigungen festzustellen waren. Die Dosierungen, die von uns angewendet wurden, sind in der beiliegenden Tabelle wiedergegeben.

Tabelle 1. *Chronische Toxizitätsversuche mit Hostacain.*

Tiergattung	Anzahl der Tiere	Einzel-dosis in mg/kg	Anzahl der Injektionen	Versuchs-dauer in Tagen	Gesamt-menge in g/kg	Gesamtmenge in g/Tier
Hund	1	40	25	33	1,0	12,9
	1	30	25	33	0,75	8,25
	1	20	25	33	0,5	6,45
Kaninchen	1	80	18	25	1,44	3,6
	4	60	17	24	1,02	2,6; 2,3; 2,5; 1,5
	3	40	25	33	1,00	2,50; 2,70; 2,7
	1	30	25	33	0,75	1,87
	2	20	25	33	0,50	1,35; 1,10
						Durchschnitt
Ratten	3	80	18	25	1,44	0,202
	3	40	25	33	1,0	0,156
	3	30	25	33	0,75	0,147
	3	20	25	33	0,5	0,09
Katzen	1	60	18	25	1,0	2,1
	1	40	26	33	1,04	2,2
	1	20	26	33	0,52	1,04

Die Tiere erhielten die Injektion täglich (außer sonn- und feiertags). Nach Abschluß der Versuche wurde eine Beobachtungszeit von 4 Wochen eingeschaltet und anschließend die Sektion<sup>1</sup> durchgeführt. Die makroskopischen und histologischen Untersuchungen ergaben keine Anhaltspunkte für eine Schädigung, vor allem der Stoffwechsel- und Ausscheidungsorgane (Blase). Um die Ungiftigkeit des Hostacain und seiner Spaltprodukte zu demonstrieren, haben wir außerdem Versuche an einigen Tieren mit *extrem hohen Dosen* durchgeführt. So erhielt beispielsweise ein 11 kg schwerer Hund am 11. 11. 1952 im Verlaufe von 8 Std

<sup>1</sup> Die Untersuchungen wurden von Herrn Dr. BENOIT makroskopisch und histologisch durchgeführt. Für seine Mühe möchte ich ihm an dieser Stelle ganz besonders danken.

4 g Hostacain s. c. injiziert. Das Tier erhielt insgesamt 100 cm<sup>3</sup> einer 4%igen Lösung, die in 5 Portionen injiziert wurde. Diese toxischen Dosen führten zu Seitenlage mit Laufbewegungen, Beeinflussung der Atmung und Speichelfluß. Das Tier erholte sich sehr rasch und überlebte die Wiederholung dieser Dosis am 10. 1., 16. 1., 19. 1. und 22. 1. 1953. Der Hund erhielt innerhalb eines Zeitraumes von etwa 2 Monaten insgesamt etwa 20 g Hostacain einverleibt. Außer an den Tagen, an denen er das Hostacain verabreicht bekam, war er munter, freß- und rauf lustig und behielt sein Gewicht. 14 Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier getötet. Die Sektion ergab keine Anhaltspunkte für eine Schädigung der Organe. Auch Versuche an Kaninchen, die innerhalb eines Zeitraumes von 12 Tagen 2, 4, 6 und 8 g Hostacain s. c. als 2%ige Lösung erhielten, zeigten keine Schädigung bei der Sektion, die 14 Tage nach der letzten Injektion durchgeführt wurde. Bei Anwendung derartig extrem hoher Dosen wurde beobachtet, daß im Harn der Kaninchen bereits durch den Geruch o-Chlortoluidin zu erkennen war.

### Zusammenfassung.

Das *Hostacain* (Hydrochlorid des  $\omega$ -n-Butylamino-essigsäure-2-methyl-6-chloranilid) ist ein Leitungsanaesthetikum der Nirvanin-Reihe, dessen „Peptid“-ähnliche — NHCO — Bindung im Organismus durch *Fermente* gespalten wird. Versuche in vitro ergaben, daß die Spaltung vor allem in der Leber erfolgt und daher eine durch Hostacain am Applikationsort hervorgerufene lokale Anaesthesie vollkommen unbeeinflusst bleibt.

Am Froschischiadicus und im Mäuseschwanztest erwies sich das Hostacain als stark wirksames Leitungsanaesthetikum, das die Wirkung des Procain etwa um das 4fache übertrifft. Die Anaesthesie tritt äußerst rasch ein und hält, wie Versuche an der Meerschweinchenquaddel ergaben, viel länger an als bei Anwendung gleichkonzentrierter Procain-Lösungen.

Die rasche Spaltung der resorbierten Hostacain-Mengen bietet den Vorteil, daß bei langsamer Resorption im Organismus nicht die Konzentration erreicht wird, die zu einer allgemeinen Vergiftung führt. Trotz seiner starken lokalanaesthetischen Wirkung ist das Hostacain bei s. c. Injektion, die eine langsame Resorption gewährleistet, nur ebenso toxisch wie das Procain. Daß diese geringe Toxizität auf einer raschen Spaltung des Hostacain im Organismus und nicht auf einer lokalen Resorptionsverzögerung bei subcutaner Injektion beruht, bewiesen Versuche an Kaninchen, denen das Präparat intravenös als Dauerinfusion einverleibt wurde. Bei rascher intravenöser Injektion ist Hostacain entsprechend seiner starken Wirkung doppelt so toxisch wie das Procain.



Die Spaltprodukte des Hostacain werden mit dem Harn ausgeschieden. Auch bei wiederholter Verabfolgung konnte an den Versuchstieren keine Schädigung der Organe beobachtet werden.

### Literatur.

EINHORN u. OPPENHEIMER: Liebigs Ann. **311**, 155 (1900). — FROMHERZ, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **93**, 75 (1922). — FUSSGÄNGER, R., u. O. SCHAUMANN: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **160**, 53 (1931). — HARNISCH, H.: Dtsch. zahnärztl. Z. **7**, 380 (1952). — HÄUSSLER, A. und L. THER: Arzneimittel-Forsch. (im Druck). — LÖFGREN, N.: „Studies on Local Anaesthetics“, Diss. Stockholm 1948. — MC MAHON u. WOODS: zit. nach STEN WIEDLING: Anaesthesist **1**, 119 (1952).

Privatdozent Dr. med. LEOPOLD THER, Pharmacol. Laboratorium  
der Farbwerke Hoechst, Frankfurt a. Main.