

Verbindung	Bruttoformel	f.p. b.p.	Isoproterenol-Antagonismus	
			Blutdruck Katze mg/kg i.v.	Frequenz isoliertes Meerschwein- chen-Herz g/ml
1a	<chem>C18H23O3N.HCl</chem>	107-109°	0,03	$8 \cdot 10^{-9}$
1b ⁵	<chem>C16H25O3N.C4H4O4</chem>	70-72°	0,1	$2 \cdot 10^{-8}$
1c	<chem>C16H26O3N.HCl</chem>	89-91°	0,02	$6 \cdot 10^{-9}$
2a	<chem>C16H25O3N</chem>	146-149°/0,1 mm	0,06	$3 \cdot 10^{-8}$
2b	<chem>C25H27O3N</chem>	170-176°/0,1 mm	0,05	$2 \cdot 10^{-8}$
2c	<chem>C21H26O3N</chem>	205-210°/0,1 mm	0,06	$6 \cdot 10^{-9}$
3	<chem>C16H21O3N</chem>	58-60°	0,03	$1 \cdot 10^{-7}$
4	<chem>C12H19O3N.HCl</chem>	127°	0,3	$6 \cdot 10^{-8}$
5	<chem>C16H23O3N.HCl</chem>	148-149°	1	$3 \cdot 10^{-7}$

Zur Abklärung des Einflusses des *o*-Allyloxy-Substituenten auf die Wirkungsqualität der Verbindungen vom Typ I wurde das in ortho-Stellung durch eine unverätherte Hydroxyl-Gruppe substituierte 1-(*o*-Hydroxy-phenoxy)-2-hydroxy-3-isopropylamino-propan (4)⁴ durch Hydrogenolyse des nach den vorgehend beschriebenen Methoden synthetisierten 1-(*o*-Benzylxy-phenoxy)-2-hydroxy-3-isopropylamino-propan hergestellt. Eine weitere Gruppe *o*-Hydroxy-substituierter Phenoxy-propanolamine war zugänglich durch Umlagerung der *o*-Allylather vom Typ I nach CLAISEN. Durch Erhitzen von 1a in Wasser ist beispielsweise das isomere 1-[(2-Hydroxy-3-allyl)-phenoxy]-2-hydroxy-3-isopropylamino-propan⁵ erhalten worden.

Die pharmakologischen Daten (Tabelle) zeigen, dass die Derivate des 1-(*o*-Allyloxy-phenoxy)-3-amino-propanol-(2) β -Rezeptoren blockierende Aktivität haben. Die Intensität der Wirkung hängt dabei von der Struktur der pharmakophoren Elemente A, B und C ab.

Für die β -Rezeptoren-Blockade scheint der Substituent in ortho-Stellung der Aryl-Gruppe A von wesentlichem Einfluss zu sein. Die *o*-Allyloxy-Verbindungen 1a und 1c wirken gegenüber Isoproterenol 10 bis 30 mal stärker als die entsprechenden unverätherten Analoga 4 und 5.

Das Strukturelement B, die α -Hydroxy-äthylamin-Gruppierung, bewirkt einen optimalen Effekt, wenn diese unverzweigt ist. Das Hydroxy-äthylamin-Fragment kann jedoch auch durch einen Oxazolidin-Rest substituiert werden, ohne dass eine deutliche Reduktion des Isopro-

terenol-Antagonismus am Blutdruck der Katze auftritt, wie dies aus einem Vergleich der Präparate vom cyclischen Typ II (2a, 2b, 2c, 3) mit 1a hervorgeht. Am isolierten Herzen hingegen führt eine Substitution des Oxazolidins in Stellung 2 durch eine Pyridyl- oder eine Carbonylgruppe (2c und 3) zu einem Abfall der β -Rezeptoren blockierenden Wirksamkeit.

In Übereinstimmung mit den bekannten β -Rezeptoren-Blockern bewirkt auch in der *o*-Allyloxy-phenoxy-propanolamin-Reihe die Isopropyl-Gruppe als Struktur-Element C eine optimale Wirkung (1a > 1b).

Summary. The synthesis of a new class of adrenergic β -receptor blocking agents based upon a *o*-allyloxy-phenoxy-propanolamine structure is described. The structure activity relationships were studied, and the structural elements responsible for an optimal pharmacological effect are discussed.

M. WILHELM, P. HEDWALL und M. MEIER

Chemische und biologische Forschungslaboratorien der pharmazeutischen Abteilung der CIBA Aktiengesellschaft Basel (Schweiz), 27. April 1967.

⁴ Vgl. belg. Pat. No. 641133 (ICI).

⁵ Diese Verbindung ist inzwischen in der niederländischen Patentanmeldung No. 6607921 (ICI) erwähnt worden.

Der Einfluss von Halothan und Chloroform auf die Feinstruktur und Proteinsynthese der Rattenleber

Halothan (1,1,1-Trifluor-2-chlor-2-brom-äthan) hat als stark wirksames Inhalationsnarkotikum seit 10 Jahren eine rasche Verbreitung gefunden. Berichte über einzelne schwere Leberschäden nach operativen Eingriffen in Halothannarkose riefen ein zunehmendes Misstrauen gegenüber dem neuen halogenierten Kohlenwasserstoff hervor¹. Viele bezweifelten ernsthafte Unterschiede zwischen Halothan und Chloroform².

Im Gegensatz zu Chloroform ergaben Tierversuche an verschiedenen Spezies nach Halothannarkose nur mäßige,

vorwiegend periportale Leberzellverfettungen^{3,4}. Bei Fettablagerung in Leberzellen ist auf Grund pathogenerischer Zusammenhänge an eine Hemmung der Proteinsynthese zu denken. REES und SHOTLANDER⁵ zeigten, dass eine toxische Schädigung der Proteinsynthese in

¹ O. KLINGE, Klin. Wschr. 43, 1042 (1965).

² M. H. A. DAVISON, Br. J. Anaesth. 37, 655 (1965).

³ F. H. NORRIS, P. H. GEISLER, W. L. PRITCHARD und K. D. HALL, Archs int. Pharmacodyn. Thér. 145, 405 (1963).

⁴ H. URBAN und W. D. ERDMANN, Anaesthesia 14, 79 (1965).

⁵ K. R. REES und V. L. SHOTLANDER, Proc. R. Soc. B. 157, 517 (1963).

den Leberzellen zu einer Verfettung führt, da die Proteinkomponente der Lipoproteine nicht gebildet werden kann und ein Abtransport von Lipiden als Lipoproteine nicht möglich ist. Somit war von Interesse, ob ein gleichartiger Zusammenhang auch für die Fettablagerungen in den Leberzellen nach Halothannarkose und die schweren Leberzellverfettungen nach Chloroformnarkose nachzuweisen war. Wir untersuchten daher die Ultrastruktur der Leberzellen von Ratten während Halothan- und Chloroformnarkose und prüften die Proteinsynthese durch Bestimmung der Einbaurate tritiummarkierter Leucins in die Leberproteine.

Methode. 20 ausgewachsene, 10 h nüchtern Sprague-Dawley-Ratten inhaledierten bis zu 5 h 1,5 Vol% Halothan, bzw. 1 Vol% Chloroform in Sauerstoff. Die Temperatur des Narkoseraumes war so reguliert, dass die Rectaltemperatur der Tiere bei 38 °C lag. Am Ende jeder Narkose erfolgte bei Entnahme der Leberprobe gleichzeitig eine arterielle Blutgasanalyse. Es zeigte sich bei allen Tieren eine leichte respiratorische Acidose ohne die Zeichen einer arteriellen Hypoxämie oder metabolischen Acidose. Die Leberproben wurden – zum Teil noch *in vivo* – durch gepufferten 6%igen Glutardialdehyd und anschliessend in 1%iger Osmiumsäure in Paladepuffer fixiert, entwässert und in Vestopal eingebettet. Die Nachkontrastierung der Dünnschnitte geschah mit Uranylacetat und Bleihydroxyd. Es wurden mehr als 100 Leber-

proben untersucht. Bei allen Versuchstieren erfolgten histologische Kontrollen mit H.-E.- und scharlachrotgefärbten Leberschnitten. Unter gleichen Bedingungen erhielten je 3 Ratten 5 mC/kg H-3-L-Leucin i.p. während Halothan- und Chloroformnarkose. 60 min später wurde die Leber entnommen und Autoradiogramme nach der Technik von JOFTES⁶ angefertigt (NTB-2-Emulsion Kodak, Kontaktzeit 6 Tage). Die Silberkornzahl über den Leberepithelien wurde für die Peripherie und das Zentrum der Leberläppchen getrennt bestimmt. Ebenso wurde die Silberkornzahl über den Kufferschen Sternzellen im Leberläppchenzentrum ermittelt.

Ergebnisse. Nach 5 h Halothannarkose zeigten viele Leberepithelien an der sinusoidalen Zellseite Ablagerungen von Fetttropfen, von histologisch und elektronenoptisch geringem Ausmass. Das granuläre endoplasmatische Reticulum war in seiner Feinstruktur gut erhalten (Figur 1).

Bei einigen Halothantieren fanden wir eine Zunahme des glatten endoplasmatischen Reticulums (Figur 2). Dieses Phänomen wird häufig nach Applikation von lipoidlöslichen Pharmaka, wie Phenobarbital und anderen

⁶ D. L. JOFTES, Lab. Invest. 8, 131 (1959).

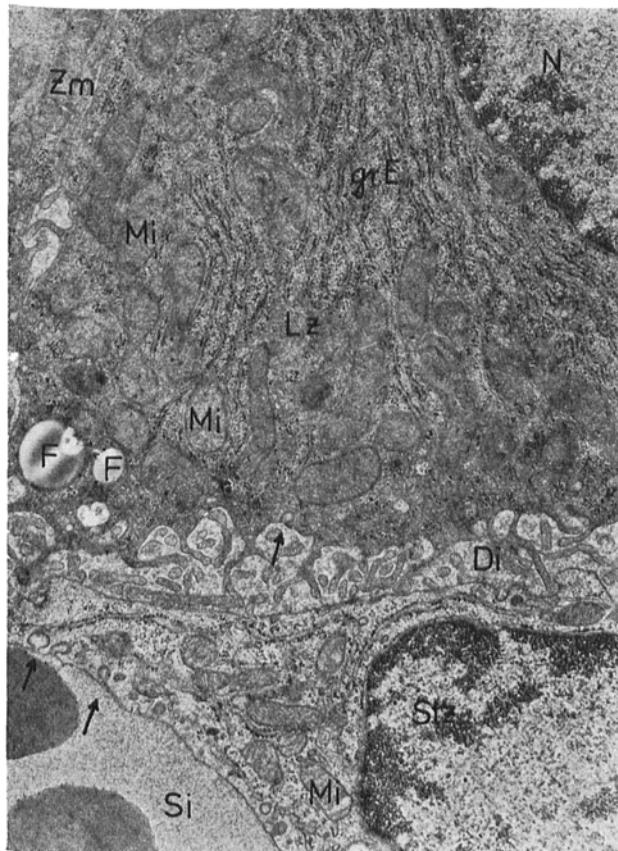


Fig. 1. Teile einer Leberepithelzelle (Lz) und einer Sternzelle (Stz) der Ratte nach 4 $\frac{1}{2}$ h Halothannarkose. Gut erhaltenes geordnetes granuläres endoplasmatisches Reticulum (grE) in Kernnähe (N). Zwei Fetttropfen (F) am Sinusoid (Si). Intakte Mitochondrien (Mi), Zellmembran (Zm), Dissésscher Raum (Di) mit Mikrovilli, Ablaufende Pinozytosen (Pfeile). In-vivo-Fixierung mit Glutardialdehyd/Osmiumsäure, Vestopal-Einbettung. $\times 17\,000$.

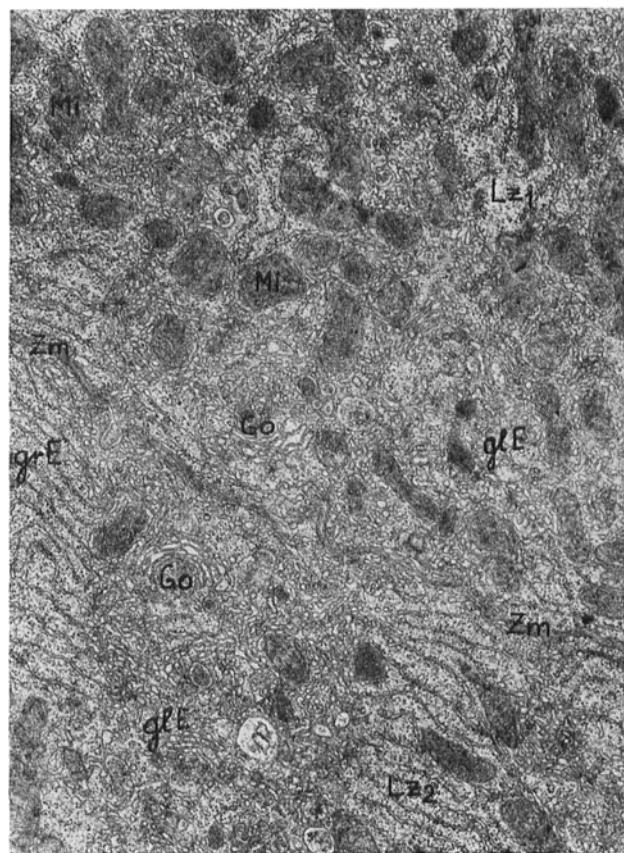


Fig. 2. Ausschnitt von zwei Leberepithelzellen (Lz₁ und Lz₂) der Ratte nach 4 $\frac{1}{2}$ h Halothannarkose. Starke Entwicklung des glatten endoplasmatischen Reticulums (glE) im Bereich der Golgifelder (Go). Zellmembran (Zm), Mitochondrien (Mi), granuläres, endoplasmatisches Reticulum (grE). In vivo-Fixierung mit 1% Osmiumsäure/Paladepuffer, Vestopal-Einbettung. $\times 17\,500$.

beobachtet⁷. Dabei findet gleichzeitig eine Vermehrung mikrosomaler arzneimittel-oxydierender Enzyme statt, die durch eine Verkürzung der Hexobarbitalwirkung hervortritt. Der Schlaftest mit Hexobarbital zeigte dementsprechend nach fünfstündiger Halothannarkose bei Vergleich gepaarter Beobachtungen eine Beschleunigung ($p = 0,05$) des Hexobarbitalabbaues. Nach Chloroformnarkose tritt als Folge destruierender Vorgänge eine Verlängerung der Schlafzeit ein ($p = 0,01$).

Unter Chloroformnarkose sind im Unterschied zu Halothan bereits nach 60 min feine herdförmige Anschwellungen des granulären endoplasmatischen Reticulum mit Ablösung von Ribosomen deutlich sichtbar. $3\frac{1}{2}$ h später treten zahlreiche diskrete Mitochondrielläsionen in Gestalt von kleinen fleckförmigen Aufhellungen der Matrix hinzu. Vereinzelt ist auch die gesamte Matrix aufgeheilt. Gleichzeitig zeigt das granuläre endoplasmatische Reticulum cisternenartige Erweiterungen. Die Ribosomen sind nahezu vollständig abgelöst. Im Grundplasma finden sich eine grosse Zahl diffus verteilter Fetttröpfchen. Das glatte endoplasmatische Reticulum bildet in vielen Leberepithelien eindrucksvolle Areale von Tubuli aus, deren Grösse das Ausmass von Zellkernen erreichen kann (Figur 3). Diese Neubildungen sprechen unter anderm für einen intakten Energiestoffwechsel der Leberzellen in den ersten Stunden der Chloroformnarkose.

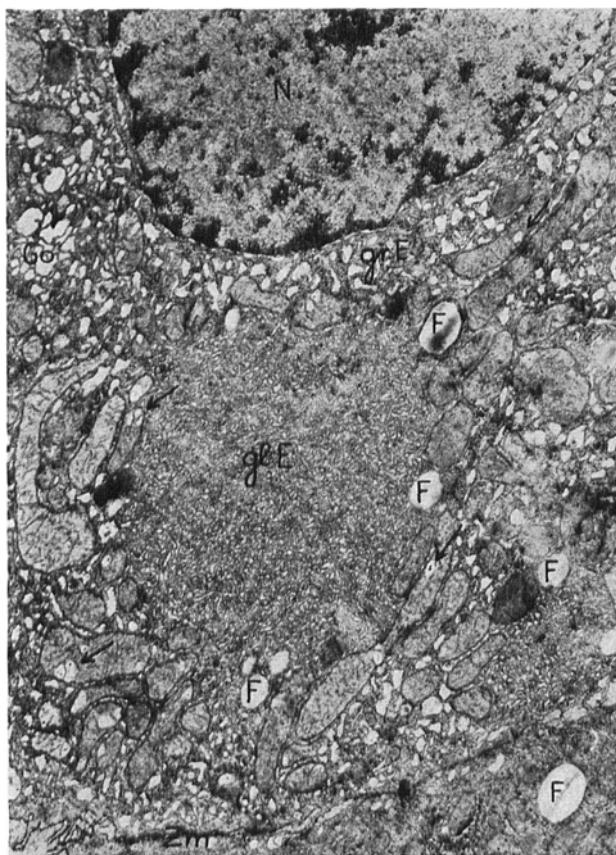


Fig. 3. Ausschnitt aus einer Leberepithelzelle der Ratte nach Chloroformnarkose von $4\frac{1}{2}$ h. Grosses Konvolut aus glattem endoplasmatischem Reticulum (gl E). Starke Dilatation des granulären endoplasmatischen Reticulum (gr E) und des Golgiapparates (Go). Zellmembran (Zm), Zellkern (N), Fett-Tropfen (F), herdförmige Matrixaufhellung der Mitochondrien (Pfeile). Technik wie Figur 1. $\times 11\,000$.

Bei den engen Beziehungen des granulären endoplasmatischen Reticulums zur Proteinbildung sind Schädigungen dieses Systems stets mit einer verringerten Proteinsyntheselastigkeit, d.h. einer verminderten Einbaurate von Aminosäuren in die Proteine verbunden. Das Ergebnis der autoradiographischen Untersuchung der Proteinsynthese im Leberläppchen zeigt Figur 4. Im Gegensatz zu Halothan ist schon nach kurzer Chloroformeinwirkung der Einbau der Aminosäure in den Leberepithelien des Läppchenzentrums vermindert. Eine Verringerung der Silberkornzahl über der Läppchenperipherie tritt bei Chloroform erst nach mehr als 2 h Narkose ein. Die Sternzellen sind von der Schädigung nicht betroffen.

Diskussion. Die Schädigung der zentroacinären Leberepithelien durch Chloroform haben als erste WHIPPLE und SPERRY hervorgehoben⁸. Im Elektronenmikroskop zeigen sich die ersten Veränderungen am granulären endoplasmatischen Reticulum, sie greifen deutlich später die Mitochondrien über⁹.

In den letzten Jahren mehrten sich neue Argumente dafür, dass die Chloroformschädigung des Läppchenzentrums durch eine örtliche Biotransformation und toxische Spaltprodukte ausgelöst wird. Die Aktivität vieler Leberzellenenzyme ist im Leberläppchen nicht homogen verteilt¹⁰. Lipoidelösliche Fremdstoffe werden vorwiegend im Acinuszentrum hydroxyliert¹¹. Im Falle von CCl_4 entstehen dort Metabolite, die an die Mikrosomen gebunden sind^{12,13} und die zur Proteinsynthese erforderliche Membranstrukturen schädigen¹⁴. Die histopathologischen,

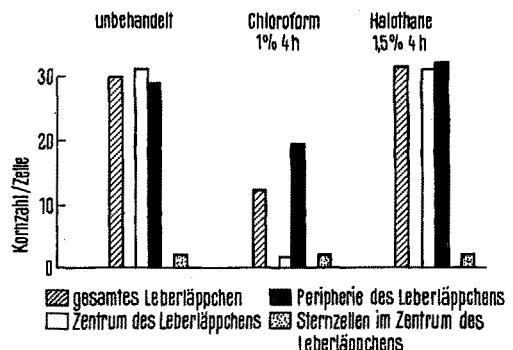


Fig. 4. Silberkornzahl über den Leberepithelien im Zentrum und in der Peripherie, sowie über den Sternzellen im Zentrum des Leberläppchens der Ratte: 60 min nach Injektion von H-3-L-Leucin, während Halothan- und Chloroformnarkose wie auch bei unbehandelten Tieren.

⁷ A. H. CONNEY, in *Drugs and Enzymes* (Czechoslovak Med. Press, Praha 1965) p. 277.

⁸ G. H. WHIPPLE und J. A. SPERRY, Johns Hopkins Hosp. Bull. 20, 278 (1909).

⁹ K. L. SCHOLLER, Tagung Schweizerische, Österreichische und Deutsche Anaesthesiegesellschaft, Zürich 1965; Anaesthesia 15, 145 (1966).

¹⁰ M. WACHSTEIN, in *The Liver* (Academic Press, New York 1964), vol. I, p. 137.

¹¹ L. W. WATTENBERG und J. L. LEONG, J. Histochem. Cytochem. 10, 412 (1962).

¹² A. L. ROQUE und M. E. FEDORKO, J. Histochem. Cytochem. 9, 613 (1961).

¹³ E. S. REYNOLD, Fedn Proc. Fedn Am. Soc. exp. Biol. 22, 1253 (1963).

¹⁴ G. RICHTER, Acta biol. med. germ. 15, 667 (1965).

elektronenmikroskopischen und funktionellen Auswirkungen von CCl_4 und $CHCl_3$ auf die Leber gleichen sich stark, so dass auf einen gleichartigen Schädigungsmechanismus geschlossen werden darf. Die zentroacinaré Hemmung der Proteinsynthese führt auch bei Chloroform über den eingangs erwähnten pathogenetischen Zusammenhang zu einer zentrolobulären Leberzellverfettung und einem Abfall des Plasmagehaltes an leberspezifischen Gerinnungsproteinen¹⁵.

Halothan zeigt demgegenüber ein wesentlich anderes Verhalten. Eine Biotransformation ist ebenfalls bei Mensch und Tier nachgewiesen worden. Sie führt jedoch nach heutigen Kenntnissen nicht zu toxischen Metaboliten¹⁶. Die aus Halothan in der Leberzelle in kleinen Mengen gebildete Trifluoressigsäure ist an der Ratte 400mal weniger toxisch als Monofluoressigsäure. Die beim Kaninchen während Halothannarkose stündlich anwachsende Halothanabbauart ist ebenso wie die Verkürzung der Hexobarbital-Schlafzeit nach Halothannarkose an Ratten Folge einer Induktion mikrosomaler oxydierender Enzyme, deren morphologisches Äquivalent sich in einer Vermehrung des glatten endoplasmatischen Reticulums vorfindet. Das granuläre endoplasmatische Reticulum bleibt auch während vielstündiger Halothannarkose gut erhalten. Die komplexen, hochdifferenzierten Vorgänge der Proteinbiosynthese laufen ungestört weiter. Im Gegensatz zu Chloroform bleibt auch der Plasmagehalt leberspezifischer Gerinnungsproteine und die Serumaktivität der Transaminasen unverändert.

Für die geringere, meist periportale Fettablagerung in Leberzellen nach Halothannarkose trifft die für die vorwiegend zentrolobuläre Leberzellverfettung nach Chloroformeinwirkung zutreffende pathogenetische Beziehung nicht zu. Vielmehr ist daran zu denken, dass eine unterbrochene Nahrungsaufnahme¹⁷, wie auch eine Stress-Situation¹⁸ oder Adrenalingaben¹⁹ zu einer Mobilisierung freier Fettsäuren aus den Fettdepots und Ablagerungen von Triglyceriden in Leberzellen führt.

Derartige Stoffwechselbedingungen liegen in der Regel während und nach einer Allgemeinnarkose bei Versuchstieren vor. Auch während Halothannarkose steigen die freien Fettsäuren im Serum der Ratte an. Die Fettablagerungen in den Leberzellen entsprechen in Menge und Lokalisation der durch Hunger oder Adrenalin auslösbar Leberzellverfettungen. Demzufolge können diese Fettablagerungen nach Halothannarkose nicht als eine dem Halothan eigene toxische Wirkung auf die Leberzelle aufgefasst werden. Sie sind in erster Linie als Ausdruck der Stoffwechselbedingungen während der Narkose zu betrachten²⁰.

Summary. Examinations by electron microscopic and autoradiographic techniques of whether chloroform and halothane alter protein synthesis in rat liver, demonstrate, that chloroform causes an early destruction of the granular endoplasmatic reticulum accompanied by a marked decrease of the protein synthesis in the centre of the acini. After anaesthesia with halothane, the granular endoplasmatic reticulum and the protein synthesis proved to remain unaffected.

K. L. SCHOLLER

Institut für Anaesthesiologie der Universität Freiburg i. Br. und Elektronenmikroskopische Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Frankfurt/Main (Deutschland), 26. Januar 1967.

¹⁵ H. P. SMITH, E. D. WARNER und K. M. BRINKHOUSE, J. exp. Med. 66, 801 (1937).

¹⁶ A. STIER, Biochem. Pharmac. 7, 1544 (1964).

¹⁷ J. SCHLICHT, Virchows Arch. path. Anat. Physiol. 326, 568 (1955).

¹⁸ B. B. BRODIE und R. P. MAICKEL, Ann. N.Y. Acad. Sci. 104, 1049 (1963).

¹⁹ L. A. CARLSON, Acta chir. scand. suppl. 325, 5 (1964).

²⁰ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Histochemical Comparison of Mast Cell and Globule Leucocyte Granules in the Rat

A considerable literature exists concerning the so-called 'atypical mast cells' of the small intestine mucosa of the rat. These cells have been noted to differ from normal mast cells of other areas in respect of morphology¹, fixation properties², staining reactions and histochemistry³, as well as in their response to compound 48/80⁴. Whether normal mast cells are also found in the small intestine mucosa of the rat is less clear. However, MOTA et al.⁵ indicate that they are practically absent from this area. While the precise relationship of 'atypical mast cells' to normal mast cells is uncertain, it appears likely that 'atypical mast cells' and globule leucocytes⁶ (Figure 1) are identical cell types. WHUR⁷ investigated this question by attempting to locate normal mast cells, 'atypical mast cells' and globule leucocytes in the small intestines of rats. Animals infected with *Nippostrongylus brasiliensis* were included in these observations, since it has been reported that this nematode elicits both mast cell⁸ and globule leucocyte^{6,9} responses. Globule leucocytes were located but normal mast cells and 'atypical mast cells' were entirely absent. The staining of globule leucocytes and their

failure to degranulate during anaphylaxis, however, resembled observations on 'atypical mast cells'^{3,4}. On this basis it seems possible that the globule leucocytes and 'atypical mast cells' of the small intestine mucosa of the rat are one and the same cell. The designation of such cells as 'atypical mast cells' implies a certain basic similarity to the normal mast cell, and it is suggested that the globule leucocyte might be legitimately referred to as an atypical mast cell if the presence of heparin, 5-hydroxytryptamine (5-HT) or histamine could be demonstrated within its granules. The present communication reports the results of an investigation designed for this purpose.

¹ T. E. HUNT and E. A. HUNT, Anat. Rec. 124, 309 (1956).

² L. ENERBÄCK, Acta. path. microbiol. scand. 66, 289 (1966).

³ L. ENERBÄCK, Acta. path. microbiol. scand. 66, 303 (1966).

⁴ L. ENERBÄCK, Acta. path. microbiol. scand. 66, 313 (1966).

⁵ I. MOTA, A. G. FERRI and S. YONEDA, Q. Jl microsc. Sci. 97, 251 (1956).

⁶ P. WHUR, J. comp. Path. Ther. 76, 57 (1966).

⁷ P. WHUR, Int. Archs Allergy appl. Immun. 30, 351 (1966).

⁸ P. D. WELLS, Expl Parasit. 12, 82 (1962).

⁹ P. WHUR, J. comp. Path. Ther. 77, in press (1967).