

KWI. für medizinische Forschung, Heidelberg

Colloquium am 19. Juli 1943.

R. Kuhn: *Über Blastokoline.*

Im Jahre 1934 hat A. Köckemann¹⁾ eine alkohol- und äther-lösliche Substanz beschrieben, die in Früchten und Samen bestimmter Pflanzen enthalten ist und die Keimung anderer Samen verhindert. Diese Substanz wurde „Blastokolin“ genannt (griechisch $\beta\lambda\alpha\sigma\tau\acute{o}\varsigma$ = Keim, $\kappa\omicron\lambda\acute{\alpha}\xi\omega$ = ich hemme). Als besonders reich an einem solchen Blastokolin hat sich die Vogelbeere erwiesen. Aus Vogelbeeren hat schon 1859 A. W. Hofmann²⁾ ein Öl der Formel $C_6H_8O_2$ isoliert, dessen Konstitution erst jetzt aufgeklärt werden konnte³⁾. Es ist das Hexen-(2)-olid-(5,1) und konnte auch synthetisch aus Sorbinsäure gewonnen werden. Das Naturprodukt ist stark rechtsdrehend ($[\alpha]_D^{20} = +210^\circ$). Die Synthese lieferte das Racemat. Das Hexenolid, die Parasorbinsäure, wurde neben anderen ähnlich gebauten Lactonen im Samenkeimungstest an *Lepidium sativum* (Gartenkresse) geprüft (F. Moewus). In einer Verdünnung von 1:1000 war die Keimung völlig unterdrückt, bei 1:10000 entwickelten sich nur sehr kleine Wurzeln ($1/3$ der Länge der Kontrollen), bei 1:100000 war keine Wirkung mehr feststellbar. Das isomere Lacton mit einem 5-Ring, das Hexen-(2)-olid-(4,1), ist fast ebenso wirksam, während die Verschiebung der Doppelbindung zum Hexen-(4)-olid-(5,1) starke Abschwächung der Wirksamkeit zur Folge hat. Die Hydrierung der Doppelbindung führt zum völlig unwirksamen δ -Caprolacton. Das aus Parasorbinsäure und Ammoniak entstehende Lactam ist nur wenig wirksam. Dagegen übertrifft Cumarin die Parasorbinsäure bei weitem an Wirksamkeit: erst in einer Verdünnung von 1:100000 bilden sich kleine Würzelchen.

Auch die Keimung pflanzlicher Pollen (*Antirrhinum*, Löwenmäulchen) läßt sich durch Sorbinöl hemmen. 1:1000 unterdrückt das Pollenschlauchwachstum vollständig, während bei 1:10000 nur kleine Pollenschläuche entstehen.

Ferner wurden einzelne Mikroorganismen geprüft. *Staphylococcus aureus* und Hefe *M* wurden schon von kleinen Konzentrationen gehemmt, während Milchsäure-Bakterien (*Streptobacterium plantarum*) auch in gesättigter wäßriger Lösung von Parasorbinsäure (etwa $1/2\%$) noch unbehindert wuchsen.

In Übereinstimmung mit Madewar, G. M. Robinson u. R. Robinson⁴⁾ standen die Ergebnisse der Prüfung des synthetischen Sorbinöls an Gewebekulturen, die von H. Cramer und H. Lettré ausgeführt wurde. Fibroblastenkulturen (Mesenchymzellen) wurden mit einer Konzentration von $10 \gamma/cm^3$ vollständig gehemmt, während Epithelzellenkulturen auch durch hohe Konzentrationen ganz unbeeinflusst blieben. Ebenso wie Epithelzellen verhält sich das aus diesen hervorgehende Carcinomgewebe (Ehrlichsches Mäusecarcinom). T. B. Heaton⁵⁾, der zuerst die Einwirkung eines solchen Wachstumshemmstoffes auf Gewebekulturen geprüft hat, beschreibt, daß sein aus Hefe oder Malz gewonnenes Präparat ebenso wie normale Mesenchymzellen auch Sarkomzellen hemmt, welche aus dem Mesenchym hervorgehen. Diese Befunde werden zurzeit nachgeprüft.

R. Kuhn: *Über das aus krebserregenden Azofarbstoffen entstehende Fermentgift.*

Es wird kurz auf die verschiedenen Theorien der Krebsentstehung eingegangen: Die Sauerstoff-Mangel-Theorie von Warburg, die Mutations-Theorie von K. H. Bauer⁶⁾, die Theorie von Kögl u. Erzeleben und schließlich ausführlich auf eine Theorie der Entstehung des Leberkrebses durch Azofarbstoffe von C. J. Kensler, N. F. Joung u. C. P. Rhoads⁷⁾. Buttergelb, das am lebenden Organismus des höheren Tieres krebserregend wirkt, wird wahrscheinlich vom Organismus reaktiv gespalten, ebenso wie es für Pron-tosil rubrum nachgewiesen ist. Aus Buttergelb entstehen dabei Anilin und unsymm. Dimethyl-p-phenylendiamin. Oxydiert man dieses mit Brom zu dem Farbsalz Wursters Rot, so entsteht, wie die amerikanischen Autoren fanden, ein spezifisches Gift für Carboxylase. Ebenso wie Dimethyl-p-phenylendiamin liefern andere ähnlich gebaute p-Diamine stärkere oder schwächere Carboxylasegifte. Die Giftwirkung ging parallel mit den von L. Michaelis, M. P. Schubert u. S. Granick⁸⁾ bestimmten Stabilitäten der freien Radikale. Sie schrieben daher die Carboxylasegiftwirkung diesen freien Radikalen zu. Die Amerikaner benutzten als Carboxylasepräparat ausgewaschene Hefe. An dieser waren auch die Amine als Carboxylasegifte wirksam. Die krebserregende Wirkung der Azofarbstoffe entsprach der Carboxylasegiftwirkung der aus ihnen abgeleiteten Amine. Die freien Radikale sind also nach den Amerikanern die eigentlichen krebserregenden Stoffe.

Diese Versuche wurden nachgeprüft (mit H. Beinert). Im Gegensatz zu Kensler u. a. wurden dabei hochgereinigte Carboxylase und kristallisierte Wurstersche Farbstoffe verwendet. Es ergaben sich nur sehr schwache Effekte. Mit rohen Lösungen von Wursters Rot und Blau, wie man sie erhält, wenn die Amine mit Brom oxydiert werden, war die Hemmung stärker als mit den Lösungen der reinen Farbsalze, und zwar um so mehr, je mehr Brom zur Oxydation verwendet wurde. Sie wurde erst maximal, wenn die Amine über die Stufe der freien Radikale hinaus oxydiert wurden. Der Hemmstoff der Carboxylase erwies sich als wasser-dampfflüchtig und konnte schließlich mit p-Benzochinon identifiziert werden. Auch beim Auflösen der reinen Wursterschen Farbstoffe in Wasser entsteht in geringer Menge Benzochinon. Chinon scheint ein Gift für zahlreiche Fermente zu sein. Es erklären sich so die mißlungenen Versuche H. Wielands, Chinon an Stelle von Methylenblau als Wasserstoff-Acceptor in biologischen Systemen zu benutzen. Auch o-Benzochinon ist ein starkes Fermentgift, wie Kubowitz an der Kartoffeloxydase zeigen konnte. Man muß daher dafür sorgen, daß Chinon durch Hydrierung zum ungiftigen Hydrochinon sofort wieder verschwindet und sich nicht anreichern kann.

Vortr. diskutiert nun eingehend die Möglichkeit, daß Benzochinon oder andere Chinone im Organismus krebserregend wirken. Der Übergang von Buttergelb in Benzochinon wird als in vivo möglich betrachtet, obwohl er nacheinander eine Hydrierung und Oxydation erfordert. Daß dies im Organismus möglich ist, wird an anderen Beispielen gezeigt. Auch die krebserregende Wirkung von Benzochinon selbst ist beschrieben. Pinselung mit einer 0,1%igen Lösung erzeugte bei Mäusen in 200 Tagen Papillome, die dann in Epitheliome übergingen. Auch andere Chinone, z. B. β -Naphthochinon, sind als krebserregend beschrieben. Die Wirksamkeit des Chinons gegenüber Carboxylase scheint nicht lediglich auf dem positiven Redoxpotential zu beruhen, da andere Oxydationsmittel mit viel positiverem Potential, wie Porphyraxid und Porphyrindin, ohne Wirkung sind. Offenbar ist es auch nicht eine Einwirkung auf die SH-Gruppen des Fermentes, worauf die Wirkung des Chinons beruht, da Porphyraxid und Porphyrindin quantitativ mit SH-Gruppen reagieren.

Alle bisher bekannten krebserregenden Substanzen sind aromatisch, nur bei den aromatischen Verbindungen gibt es Chinone. Die m-Amino-azokörper sind nicht krebserregend, dem entspricht, daß es keine m-Chinone gibt. Man kann sich fragen, ob nicht auch andere krebserregende Mittel, z. B. auch die krebserregenden Kohlenwasserstoffe, in solche, bestimmte Fermente der Zelle vergiftende, Chinone übergehen. Es ist aber auch daran zu denken, daß sie direkt in Reaktion treten, da bekannt ist, daß die höher anellierten Kohlenwasserstoffe leicht Dihydro-Verbindungen liefern. Dimethyl-p-phenylendiamin geht, wie schon Wurster 1887 beobachtet hat, bei Behandlung mit frischem Rattenmuskel in tieffarbiges Farbsalz über. Es ist anzunehmen, daß auch hierbei Chinon entsteht. Dimethyl-p-phenylendiamin ist aber, per os gegeben, nicht krebserregend. Man muß sich vorstellen, daß bei der langsamen Bildung dieses Stoffes in der Leber andere Verhältnisse vorliegen als bei der direkten Applizierung. Auch bei den Sulfonamiden sind ähnliche Erscheinungen beobachtet worden. Gewisse Azokörper zeigen eine höhere baktericide Wirkung als die aus ihnen in vivo hervorgehenden Sulfonamide. In diesem Zusammenhang ist noch auf die baktericide Wirkung von Chinonen zu verweisen. Verschiedene Naphthochinone und Benzochinone hemmen noch in großer Verdünnung das Wachstum von *Staphylococcus*, während auch hier das *Streptobacterium plantarum* resistent ist. Dieses Milchsäurebakterium gehört offenbar einem anderen — chinon-resistenten — Stoffwechseltyp an. Die Einwirkung der aus den Azofarbstoffen entstehenden Chinone kann man sich so vorstellen, daß sie bestimmte Fermente des normalen Stoffwechsels hemmen und so die Zelle zwingen, sich auf einen anderen Stoffwechseltyp umzustellen.

Aussprache: Eichholtz: Anfrage, ob die Wirkung von Parasorbinsäure und Cumarin auf einer Verdrängungsreaktion beruhen könne. Vortr.: Bisher konnte noch keine Enthemmung festgestellt werden. Der erste Verdacht war, daß das ungesättigte Lacton Antagonist des Lacton-Anteiles der Pantothensäure sei. Dieser Verdacht ließ sich nicht bestätigen. — Weygand: Das Blastokolin aus Tomaten hat nicht die Eigenschaften des Hexenolids. Es ist wahrscheinlich eine Säure. — Vortr.: Auch die durch Öffnung der Lacton-Ringe entstehenden Oxyssäuren besitzen Blastokolin-Wirkung. — K. H. Bauer weist auf die große Organspezifität bestimmter krebserregender Stoffe hin, die im Gegensatz zur Wirkungsbreite der Kohlenwasserstoffe steht. Dies macht es schwierig, die Wirkung aller dieser Mittel darauf zurückzuführen, daß sie im Organismus gleichartig auf Fermentsysteme einwirken. Anilin erzeugt ausschließlich Blasenkrebs, Buttergelb nur Leberkrebs. — Vortr.: Man kann sich vorstellen, daß die Reduktion der Azofarbstoffe zum Amin und die anschließende Oxydation zum Chinon in der Leber stattfindet und daß die peroral zugeführten Azofarbstoffe in der Leber abgefangen werden.

¹⁾ Ber. dtsch. bot. Ges. 52, 523 [1934].

²⁾ Ann. Ohem., Pharmac. 110, 129 [1859].

³⁾ R. Kuhn u. D. Jerchel, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 76, 413 [1943].

⁴⁾ Nature 151, 195 [1943].

⁵⁾ J. Pathol. Bacteriology 29, 263 [1926]; 32, 565 [1929].

⁶⁾ Diese Ztschr. 56, 219 [1943].

⁷⁾ J. biol. Chemistry 143, 465 [1942].

⁸⁾ J. Amer. chem. Soc. 61, 1981 [1939].