

Für die praktische Verwendung in der Medizin kommt es aber nicht nur darauf an, ein möglichst stark wirksames Produkt zu haben (die Zahlen der Tabelle geben ja nur die Toxizitätswerte), da man bei einem schwächer wirksamen leicht die Dosis entsprechend erhöhen kann. Polyglykoside haben viele Vorteile. Für therapeutische Zwecke stehen heute sehr viele Stoffe dieser Gruppe zur Verfügung. Welche am besten geeignet sind, kann nur durch sehr eingehende pharmakologische Untersuchungen und genaue klinische Prüfung entschieden werden.

### Empfindliche Stellen in der Molekel

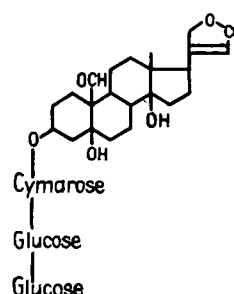
Am Beispiel des Strophanthosids soll noch angedeutet werden, durch was für Einflüsse die Wirksamkeit eines herzwirksamen Glykosids verändert oder zerstört werden kann.

Enzyme können ein oder zwei Mol D-Glucose hydrolytisch abspalten, wobei die Toxizität nicht sehr stark geändert wird, wohl aber die Löslichkeit und die klinische Wirksamkeit. Ferner kann durch Enzyme eine Isomerisierung an C-17 („Allomerisierung“) eintreten, wodurch die Wirksamkeit fast vollständig verlorengeht.

Alkali liefert Isomerisierung des Laktongrings. Die entstehende Iso-Verbindung ist biologisch unwirksam. Verdünnte Mineralsäuren bewirken bei Strophanthosid zunächst Abspal-

tung des ganzen Zuckers. Das entstehende Aglykon ist bei Injektion noch stark toxisch, besitzt aber nur geringe „Haftfestigkeit“ am Herzmuskel und ist therapeutisch nicht verwendbar.

Empfindliche Punkte in der Glykosid-Molekel



Enzyme:

- a) Abspaltung v. Glucose
- b) Allomerisierung

Alkali: Isomerisierung

Säure:

- a) Abspaltung v. Zucker
- b) Wasserabspaltung

Stärkere Säuren führen außerdem zu Anhydrierung (Abspaltung der tert. HO-Gruppen). Bei Glykosiden, die keine 2-Desoxyzucker enthalten, kann die Anhydrierung teilweise vor der Abspaltung der Zucker erfolgen.

Eingeg. am 12. Juni 1951

[A 367]

## Zur Chemie und Biologie der Mitosegifte

Von Prof. Dr. HANS LETTRÉ

Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg

Der Aufbau und Stoffwechsel der Zelle und deren Beziehungen zum umgebenden Medium werden erörtert. Weiterhin wird die Chemie der Mitosegifte behandelt und die Wirkung dieser Stoffe auf die einzelnen Phasen der Zellteilung beschrieben. Hieraus wird der Chemismus der Zellteilung abgeleitet. Besonderheiten der Tumorzelle und ihrer Relation zum Milieu werden diskutiert.

### A) Einleitung

Seit 1939 habe ich mich mit den sog. Mitosegiften<sup>1)</sup> beschäftigt, Verbindungen, welche die mitotische Teilung kernhaltiger Zellen stören. Mit dieser Definition ist zugleich das Aufgabengebiet in seiner Zweiteilung dargelegt: Auf der einen Seite die chemischen Substanzen, deren Darstellung und Konstitutionsaufklärung notwendig sind. Auf der anderen Seite das biologische System, das in seinem Chemismus, insbes. dem der Teilung, und in seiner Wechselwirkung mit den chemischen Faktoren zu analysieren ist. Darüber hinaus führen diese Arbeiten unmittelbar zu dem Problem des ungehemmten Wachstums der Tumorzellen und dessen Beeinflussung.

### B) Die Zelle

Der Kristall, der aus einer gesättigten Lösung heranwächst, ist in seinem Innern homogen aufgebaut und besteht aus der gleichen Substanz, die in der Lösung enthalten ist. Kleine Kristalle sind gegenüber großen thermodynamisch instabil und besitzen größere Löslichkeit. Beim Kristallwachstum strebt die Oberfläche oder das Verhältnis von Oberfläche zu Masse einem Minimalwert zu, so weit die Kristallform es zuläßt. Im Gegensatz hierzu sind biologische Systeme in einem Nährmedium 1. in ihrem Innern heterogen aufgebaut und 2. in ihrer Zusammensetzung von der des Milieus verschieden. Sie wachsen nicht durch Größenzunahme der einzelnen biologischen Einheit, sondern durch Vermehrung der Zahl der Einheiten. Die Oberfläche der belebten Systeme strebt einem Maximalwert zu oder das Verhältnis von Oberfläche zu Masse sucht konstant zu bleiben<sup>2)</sup>. Die Differenz zwischen der Zusammensetzung von Umgebung und Zelle und die Existenz eines Stoffwechsels sind die innere Ursache für die zelluläre Struktur der belebten Systeme. Nach Rashevsky<sup>3)</sup> kann man aus den Diffusionsgeschwindigkeiten von Stoffen, die in die

Zelle eindringen, und solchen, die von ihr abgegeben werden, einen kritischen Zelldurchmesser bestimmen, der nicht überschritten werden darf, wenn eine gleichmäßige Versorgung aller Punkte in der Zelle vorliegen soll. Bei Überschreitung der kritischen Zellgröße muß zur Wiederherstellung des Gleichgewichtszustandes eine Teilung des Systems stattfinden.

Morphologisch besteht die tierische Zelle aus dem Zellplasma, in dem der Zellkern enthalten ist. Von Zellart zu Zellart wechselnd enthält das Zellplasma verschiedene Mengen von strukturierten Plasmabestandteilen (Mitochondrien, Mikrosomen). Chemisch unterscheiden sich diese Zellbezirke dadurch, daß im Zellkern nur die Thymonucleinsäure enthalten ist, während die Ribonucleinsäure vornehmlich im Zellplasma, aber auch im Zellkern (im Nucleolus) enthalten ist.

Die Fermente des Stoffwechsels sind an verschiedenen Stellen der Zelle lokalisiert. Nach den Untersuchungen über die Fermentlokalisierung und -trennung in Homogenisaten von Zellen (vgl. die Zusammenfassung von Schneider und Hogeboom<sup>4)</sup>) ist das Fermentsystem der Glykolyse im nicht strukturierten Zellplasma, das der Atmung in den Mitochondrien enthalten (Bild 1). Morphologisch mannigfaltiger sind die

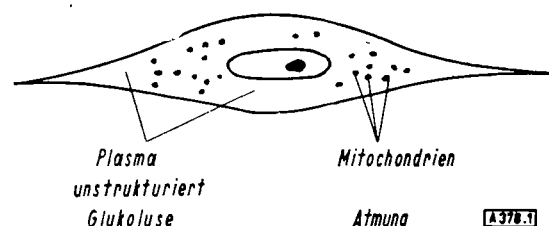


Bild 1

Zelle mit Kern und Kernkörperchen (Nucleolus). Lokalisation des glykolytischen Stoffwechsels im nichtstrukturierten Zellplasma; Lokalisation des oxydativen Stoffwechsels (Häminfermente, Cyclophorase) in den Mitochondrien des Zellplasmas

<sup>1)</sup> H. Lettré, *Ergebn. Physiol.* 46, 379 [1950]; diese Ztschr. 53, 363 [194C]; 55, 265 [1942]; 56, 193 [1943]; 60, 57, 164 [1948]; 61, 390 [1949].

<sup>2)</sup> H. Lettré, *Z. Elektrochem.* 55, [1951] im Druck.

<sup>3)</sup> Mathematical Biophysics, Chicago 1938.

<sup>4)</sup> *Cancer Res.* 11, 1 [1951].

Erscheinungen der Zellstrukturen während der mitotischen Teilung der Zelle (Bild 2).

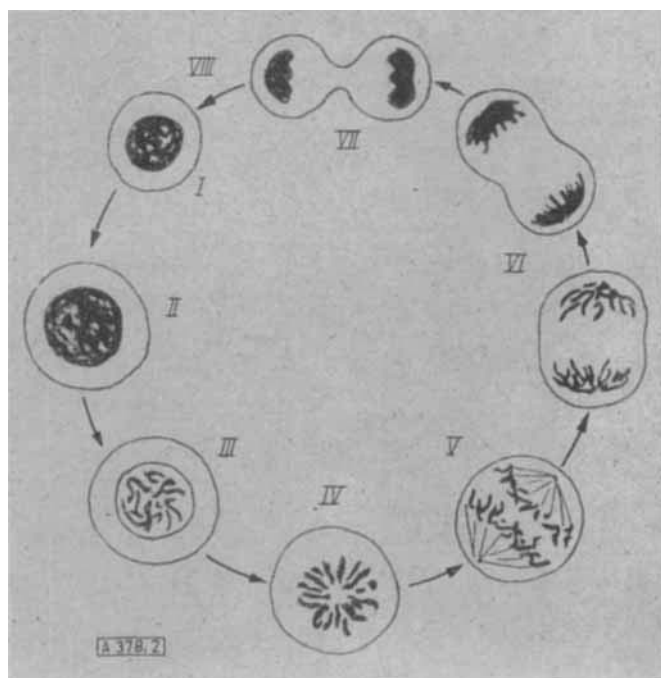


Bild 2  
Schema der Mitose

#### Morphologisch

- I. Ruhekeim
- II. Teilungsbereiter Kern
- III. Prophase, Chromatin-Abscheidung
- IV. Metaphase, Auflösung der Kernmembran
- V. Spindelbildung, Anheftung an die Chromosomen
- VI. Anaphase, Auseinanderwandern der Chromosomensätze
- VII. Telophase, Abschnürung der Zelle
- VIII. Rekonstruktion des Kerns

#### Biochemisch

- Charakterisiert durch Plasmastoffwechsel
- Synthese der Desoxyribonucleotide
- Polymerisation zur Thymonucleinsäure, Ablösung von der Kernmembran
- Intracelluläre Proteolyse
- Intracelluläre Gerinnung
- Verknüpfung über Disulfidbindung
- Kontraktilität der Spindel, des Plasmas oder der Plasmaoberfläche
- Entpolymerisierung der Thymonucleinsäure
- Bildung der Kernmembran.

Im Kern der teilungsbereiten Zelle (II) scheiden sich in der Prophase (III) die Chromosomen ab; in der Metaphase findet die Auflösung der Kernmembran, Ordnung der Chromosomen (IV) unter Bildung der Zellspindel statt (V); in der Anaphase (VI) wandern die Chromosomensätze auseinander und in der Telophase (VII) findet die Einschnürung und Teilung der Zelle statt. In der Rekonstruktionsphase bildet sich der Zellkern zurück (VIII-I). Es ist einleuchtend, daß diesem morphologisch mannigfaltigen Prozeß der Mitose auch ebenso mannigfaltige biochemische Reaktionen entsprechen, so daß bei den Einwirkungen von Hemmstoffen auf die Mitose mehr morphologisch feststellbare Veränderungen verursacht werden als bei der Wirkung auf Ruhezellen.

### C) Das adäquate Milieu der Zelle

1. In vitro. Für Bakterien ist die Herstellung von Nährmedien gelungen, die vollkommen aus definierten Substanzen zusammengesetzt sind und ein optimales Leben und Wachstum gewährleisten. Aus der biochemischen Analyse der Mutationsvorgänge kann man schließen, daß ein adäquates Milieu einen komplettierenden Charakter haben muß, wenn eine eigene synthetische Leistung einer Zelle ausfällt. Das Gesamtsystem der Zelle ist die Summe der synthetischen Leistungen der Zelle selbst und der im Milieu vorhandenen Stoffe. Für eine Reihe von tierischen Zellen kann das Medium der Gewebekultur, bestehend aus einem Gemisch von homologem Plasma und Embryonalextrakt, adäquaten Charakter haben, so daß die Zellen hierin praktisch unbeschränkt leben und wachsen können.

2. In vivo. Bei einem Vielzeller stellt das adäquate Milieu nicht nur die Komplettierung durch Nährstoffe dar, sondern darüber hinaus eine Symbiose mit anderen Zellen unter Arbeitsteilung der chemischen und synthetischen Leistungen und weiterhin eine Einfügung in ein Regulationssystem nervöser und hormonaler Faktoren.

### D) Die Zelle im nicht adäquaten Milieu

Wird die Zelle in einem Milieu gehalten, das nicht optimale Bedingungen für das Zelleben gewährleistet, so reagiert die Zelle hierauf in verschiedener Weise. Je nach dem Umfang der schädigenden Wirkung tritt

eine Zelldegeneration, Zellauflösung und Zelltod ein. Außerdem hat die Zelle aber die Fähigkeit zur Adaptation an das nicht adäquate Milieu und kann der auf sie einwirkenden Schädigung dadurch ausweichen, daß sie ihren Stoffwechsel so umstellt, daß das vorher nicht adäquate Milieu ihr wieder adäquat wird. Es ist ein noch offenes Problem, ob Adaptation an ein nicht adäquates Milieu nur eine reversible Zustandsänderung bedeutet: Hervortreten latenter Eigenschaften der Zellen, oder irreversible Veränderung mit Verlust oder Neubildung von Eigenschaften. Im letzteren Falle würden wir statt von einer Zellmodifikation von einer Zellmutation zu sprechen haben.

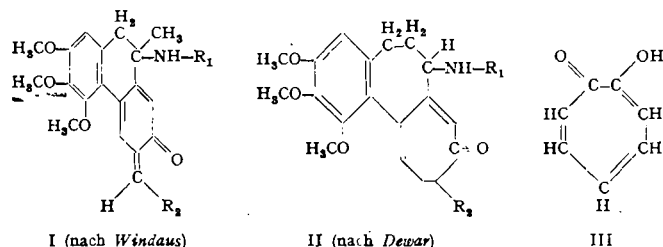
Ein nicht adäquates Milieu kann nicht nur durch das Fehlen von notwendigen Faktoren zustande kommen, sondern auch durch die Anwesenheit von Hemmfaktoren bedingt sein. In der Reaktionsweise von Zellen auf Hemmstoffe haben wir die gleiche Reaktionsskala: Zellschädigung und Zelltod oder Zelladaption und Zellmutation.

### E) Chemie der Mitosegifte

#### Beziehung zwischen Wirkung und Konstitution

#### 1a. Colchicin

Die Frage der Konstitution des Colchicins ist 1947 von mir<sup>5)</sup> in dieser Zeitschrift schon behandelt worden. In der Zwischenzeit sind von J. W. Cook<sup>6)</sup> und von amerikanischen Autoren<sup>7)</sup> eine Reihe von Argumenten dafür geltend gemacht worden, daß im Colchicin sowohl der Ring B als auch der Ring C sieben-gliedrig seien; in Formel II ist diese Formulierung des Colchicins, die zuerst von Dewar<sup>8)</sup> vorgeschlagen wurde, der von Windaus (Formel I) gegenübergestellt. Wir können nach unseren



eigenen bisherigen Untersuchungen uns der vorgeschlagenen Formulierung II nicht rückhaltlos anschließen und halten Formulierungen mit einem sechsgliedrigen Ring B und einem Brücken-C-Atom für nicht ausgeschlossen; bei einer Umwandlung des Ringes C würde unter Lösung der Brücke der Ring B sieben-gliedrig. Auch bestehen in dem chemischen Verhalten von synthetischen Tropolonen (Formel III) und Colchicin-Derivaten nicht nur wesentliche quantitative, sondern auch qualitative Unterschiede (H. Fernholz und E. Hartwig<sup>9)</sup>). Wenn in den im folgenden abgeleiteten Beziehungen zwischen Konstitution und Wirksamkeit die Formulierung nach Windaus verwendet wird, so soll damit nicht deren Richtigkeit behauptet werden, sondern diese nur als Symbol der durchgeführten Abwandlungen dienen. In Tabelle 1 sind die Formeln der Abwandlungsprodukte dargestellt, die sich vom Colchicin durch direkte Entfernung oder

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
—CO—CH <sub>3</sub>	—OCH <sub>3</sub>	Colchicin
—CO—CH <sub>3</sub>	—OH	Colchicin
—H	—OH	Trimethyl-colchicinsäure
—H	—OCH <sub>3</sub>	Desacetylcolchicin
—CO—CH <sub>3</sub>	—OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O-Äthylcolchicin
—CO—CH <sub>3</sub>	—OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	O-Propylcolchicin
—CO—CH <sub>3</sub>	—OC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	O-Butylcolchicin
—CO—C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—OCH <sub>3</sub>	N-Propionyl-desacetylcolchicin
—CO—C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	—OCH <sub>3</sub>	N-Butyryl-desacetylcolchicin
—CO—C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	—OCH <sub>3</sub>	N-Capronyl-desacetylcolchicin
—CO—CH <sub>3</sub>	—NH <sub>2</sub>	Colchicamid
—CO—CH <sub>3</sub>	—NH—CH <sub>3</sub>	N-Methylcolchicamid
—CO—CH <sub>3</sub>	—NH—C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	N-Äthylcolchicamid
—CO—CH <sub>3</sub>	—N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	N-Dimethylcolchicamid

Tabelle 1

<sup>5)</sup> Diese Ztschr., 59, 218 [1947].

<sup>6)</sup> J. Chem. Soc. [London] 1950, 537.

<sup>7)</sup> M. V. King u. R. Pepinsky, 119th Meeting Amer. Chem. Soc. 1951, 33 C, H. Rapoport, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3324 [1950], 73, 1896 [1951], Tarbell, J. Amer. Chem. Soc. 71, 2448 [1949]; 72, 240 [1950].

<sup>8)</sup> Nature [London] 155, 141, 479 [1945].

<sup>9)</sup> Naturwiss. 38, [1951] im Druck.

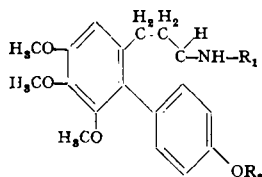
Einführung von Substituenten unterscheiden. Tabelle 2 gibt die Wirksamkeit dieser Colchicin-Derivate wieder. Colchicin-Derivate, in denen der dritte Ring noch enthalten ist, können wirksam sein. Bei Abbau des dritten Ringes verschwindet die Wirkung.

Derivat	Aktivität in $\gamma/\text{cm}^3$
Colchicin	0,01–0,03
O-Methyl-colchicein	0,05
O-Äthyl-colchicein	0,08
O-Propyl-colchicein	0,8
O-Butyl-colchicein	2,5
Colchicein	4,5
Desacetyl-colchicin	0,05
Trimethyl-colchicinsäure	100 ohne Wirkung
Colchicinsäure	100 ohne Wirkung
Colchicamid	0,01
N-Methyl-colchicamid	0,0025
N-Äthyl-colchicamid	0,003
N-Propyl-colchicamid	0,08
N-Butyl-colchicamid	0,9
N-Dimethyl-colchicamid	0,005
N-Methyl-propyl-colchicamid	0,5
N-Benzyl-colchicamid	3
N-Acetyl-jod-colchinol	0,4
N-Acetyl-colchinol	0,6
Colchinol	0,1
N-Methyl-colchinolmethyläther	4
N-Dimethyl-colchinolmethyläther	5
Hexahydro-colchicin	0,5
Oxy-colchicin	10
Trimethoxy-homonaphthid	80 ohne Wirkung
N-Acetyl-colchinsäureanhydrid	60 ohne Wirkung
N-Propionyl-desacetyl-colchicin	0,006
N-Butyryl-desacetyl-colchicin	0,001
N-Capronyl-desacetyl-colchicin	0,06

Tabelle 2

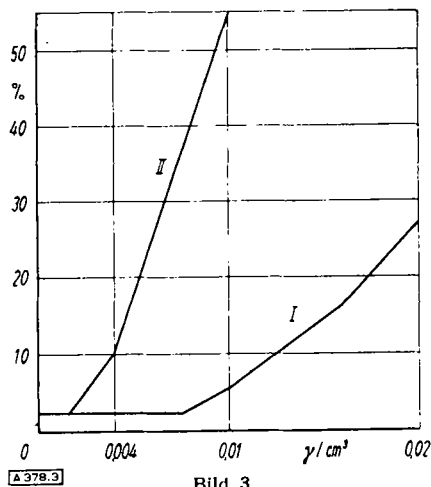
Wirksamkeit von Colchicin-Derivaten an Hühnerherzfibroblasten

Colchinol (Formel IV) ist das einfachste bisher bekannte Abbauprodukt des Colchicins, in dem noch eine Wirksamkeit vorhanden ist.



IV. Colchinol,  $R_1 = H$ ,  $R_2 = H$   
N-Acetyl-colchinolmethyläther,  $R_1 = -CO-CH_3$ ,  $R_2 = -CH_3$

Das im Colchicin vermutete Tropolon-System hat für die Wirksamkeit nur in quantitativer Hinsicht Bedeutung; Tropolon und sein Methyläther haben in Mengen bis  $100 \gamma/\text{cm}^3$  keine Mitosegiftwirkung.



Prozentzahl der Mitosen in Abhängigkeit von der Konzentration bei Fibroblasten

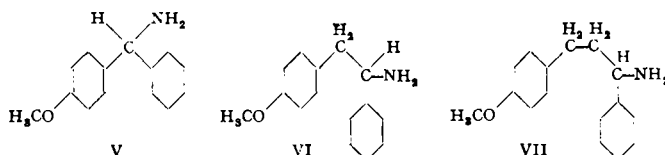
Kurve I für Colchicin; Kurve II für N-Methylcolchicamid

Alle Abbauprodukte des Colchicins zeigen quantitativ eine geringere Wirksamkeit als der Ausgangsstoff. Es ist uns auf zwei Wegen gelungen, stärker wirksame Derivate darzustellen. Wir

fanden<sup>10</sup>), daß Amine stärker in Zellen eindringen als neutrale Stoffe. Ich habe daher 1941 das neutrale Colchicin durch Erhitzen mit primären und sekundären Aminen in substituierte Colchicamide übergeführt<sup>11</sup>). Von diesen sind das N-Methyl-, N-Äthyl- und das N-Dimethyl-Derivat mehrfach stärker wirksam als Colchicin (Tabelle 2). In Bild 3 sind die Wirkungs-Dosis-Kurven von Colchicin und N-Methylcolchicamid an Fibroblasten<sup>12</sup>) einander gegenübergestellt. Auch am Mäuse-Ascites-Tumor zeigt dieser Stoff verstärkte Wirkung<sup>13</sup>). Der zweite Weg der Wirkungsverstärkung ließ sich durch den Ersatz der Acetyl-Gruppe im Colchicin durch homologe Säuren erschließen<sup>14</sup>) (s. Tabelle 2).

## 1b. Synthetische Analoge

Für den N-Acetyl-colchinol-methyläther (IV) ist durch die Totalsynthese der racem. Verbindung durch H. Rapoport<sup>7</sup>) die Konstitution und insbes. die Größe des Ringes B als Siebenring gesichert. Gerade diese Verbindung, in der Formulierung nach Windaus mit einem Sechsring, diente als Modell für die Darstellung einfacher synthetischer Verbindungen mit Mitosegiftwirkung<sup>15</sup>). Unser Befund, daß von den drei wesentlichen Typen:



dem p-Methoxy-benzhydrylamin (V), dem p-Methoxy-stilbylamin (VI) und dem  $\alpha$ -Phenyl- $\gamma$ -anisyl-propylamin (VII) nur das Stilbylamin-Derivat Wirksamkeit besitzt, wurde von uns als ein Argument für die Sechsgliedrigkeit des Ringes B im N-Acetyl-colchinol-methyläther angesehen. Um so überraschender ist, daß die bei den synthetischen Verbindungen sehr spezifische Konstitutionsabhängigkeit bei Ringverbindungen eine andere ist. Die Untersuchungen an den Stilbylaminen haben weiterhin dazu gedient, den Einfluß der Substitution auf die Wirksamkeit kennenzulernen<sup>16</sup>) (s. Tabelle 3).

Substituenten	Aktivität in $\gamma/\text{cm}^3$
4'-Methoxy-	4–5
3'-Methoxy-	20
2'-Methoxy-	unwirksam
4'-Äthoxy-	0,4
4'-Propoxy-	0,8
4'-Butoxy-	1,8
3',4'-Dimethoxy-	unwirksam
4,4'-Dimethoxy-	unwirksam
4-Methoxy-	unwirksam
3',4'-Methylenedioxy-	6
3',4'-Dimethylenedioxy-	4
3',4'-Tetramethylenedioxy-	unwirksam
3',4',5'-Trimethoxy-	unwirksam
4'-Dimethylamino-	4
4'-Methyl-	10
3',4'-Trimethylen-	10
3',4'-Tetramethylen-	10
2',3'-Benz-	unwirksam
3',4'-Benz-	unwirksam
3,4,3',4'-Tetramethoxy-	unwirksam
3,4,3',4'-Bis-(methylen-dioxy)-	unwirksam

Tabelle 3

Abhängigkeit der Wirksamkeit von Stilbylamin-Derivaten von der Substitution

Kondensiert man die beiden Benzolkerne eines Stilbylamins, so kommt man zu dem System des 1-Amino-acenaphthens. Diese Verbindung  $C_{12}H_{11}N$  (Formel VIII) ist bisher die einfachste,

<sup>10</sup>) H. Lettré u. M. Albrecht, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 279, 203 [1943].

<sup>11</sup>) H. Lettré, DRP. Anm. vom 24. 3. 1942; diese Ztschr. 55, 265 [1942].

<sup>12</sup>) H. Lettré, R. Lettré u. Ch. Pflanz, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 286, 138 [1950].

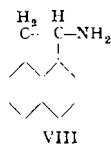
<sup>13</sup>) H. Lettré, Z. Krebsforsch. 57, 1 [1950]; H. Lettré, R. Krapp u. M. Ochsen-schläger, ebenda 57, 142 [1950].

<sup>14</sup>) H. Lettré, H. Fernholz, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 278, 175 [1943]; H. Lettré, Naturwiss. 30, 34 [1942].

<sup>15</sup>) H. Lettré u. J. Delitzsch, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 281, 139 [1944].

<sup>16</sup>) J. Delitzsch, Dissert. Göttingen 1946. H. Lettré u. A. Mex, Diplom-Arbeit Göttingen 1944.

die noch Verwandtschaft mit dem Colchicin  $C_{22}H_{25}O_6N$  hat und eine mitosehemmende Wirkung, wenn auch sehr schwach, besitzt<sup>17)</sup>.



Am Stilbylamin-System haben wir auch die stereochemische Spezifität der Mitosegiftwirkung geprüft und das 4'-Äthoxystilbylamin in seine optischen Antipoden gespalten. Nur die linksdrehende Verbindung zeigt Wirksamkeit, während die rechtsdrehende praktisch wirkungslos ist<sup>18)</sup>.

### 1c. Naturstoffe

Wir haben eine große Zahl von Alkaloiden darauf geprüft, ob sie wie das Colchicin eine hemmende Wirkung auf die Zellteilung haben, um damit zugleich auch die Frage der Konstitutionsabhängigkeit zu untersuchen<sup>19)</sup>. Unter 45 Alkaloiden, die keine Beziehung zum Stilbylamin-System besitzen (s. Tabelle 4), befand

Tyramin	Lupinin	Eseridin
Hordenin	Lupinidin	Aconitin
Ephedrin	Cinchonin	Strychnin
Mescaline	Cinchonidin	Brucin
Hygrin	Chinin	Emetin
Nicotin	Chinidin	Cephaelin
Coniin	Cinchotenin	Ergotamin
Lobelin	Pellotin	Lycopodin
Piperin	Anhalonin	Lycotoxin
Atropin	Carnegin	Agaricin
Hyoscyamin	Cotarnin	Aricin
Scopolamin	Yohimbin	Gelseminin
Ecgonin	Aspidospermin	Taxin
Cocain	Pilocarpin	Veratrin
Pelletierin	Physostigmin	Solanin

Tabelle 4

Alkaloide ohne Beziehung zur Stilbylamin-Gruppe (keine Mitosegifte)

sich kein Mitosegift. Unter 40 Alkaloiden mit Beziehung zur Stilbylamin-Gruppe (s. Tabelle 5) ließen sich, wenn wir vom Colchicin absehen, noch im Narcotin, Chelidonin, Homochelidonin

I. Colchicin-Typ	Morphin
Colchicin	Codein
Colchicein	Oxyacanthin
Apomorphin	Rhoeadin
Morphothebain	d-Tubocurarin
Corytuberin	III. Berberin-Typ
Corydin	Berberin
Bulbocapnin	Tetrahydroberberin
Boldin	16,17-Dihydro-desoxyberberin
Glaucon	Palmitiniumnitrat
Laurotetanin	Tetrahydropalmitin
Laurotetanin-methyläther	Jatrorrhizinium-chlorid
N-Acetyl-laurotetanin	Tetrahydro-jatrorrhizin
II. Papaverin-Typ	Tetrahydro-coptisin
Papaverin	IV. Chelidonin-Typ
Laudanosin	Chelidonin
Pavin	Homochelidonin
Laudanin	Methoxychelidonin
Laudanosolin	Chelerythrin
Narkotin	Sanguinarin
Gnoscopin	V. Kryptopin-Gruppe
Narcein	Protopin
Hydrastin	Kryptopin

Tabelle 5

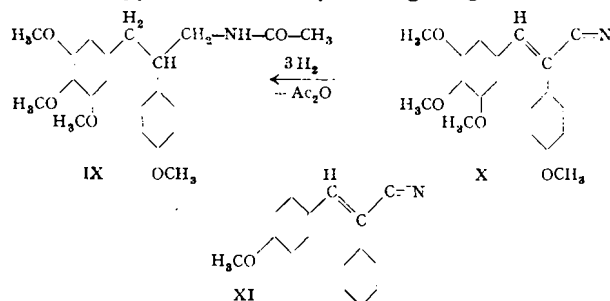
Alkaloide mit Beziehung zur Stilbylamin-Gruppe (Mitosegifte hervorgehoben)

und Methoxy-chelidonin wirksame Verbindungen finden. Diese Befunde stützen die Bedeutung der Stilbylamin-Gruppe für diese Wirkung, und um so überraschender erscheint heute die Sonderstellung des Colchicins. Die Ergebnisse mit den Alkaloiden mit Stilbylamin-Gruppe zeigen weiterhin, daß die Art ihres Einbaues in eine Molekel eine wesentliche Rolle spielt (Berberin-Typ unwirksam); weiterhin ist die Art der Substitution von Bedeutung.

<sup>17)</sup> H. Lettré u. M. Stratmann, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 288, 25 [1951].  
<sup>18)</sup> H. Lettré u. E. Ruhbaum, Diplomarbeit, Göttingen 1948.  
<sup>19)</sup> H. Lettré u. M. Albrecht, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 281, 133 [1944] 287, 58 [1951]. H. Lettré, R. Lettré u. Ch. Pflanz, ebenda 287, 53 [1951].

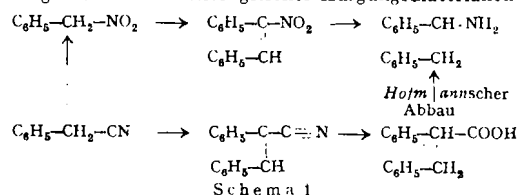
### 2. $\alpha$ -Phenyl-zimtsäurenitrile

Bei der Nacharbeitung der Angabe von J. W. Cook<sup>20)</sup>, daß das N-Acetyl- $\beta$ -(anisyl)- $\gamma$ -(3,4,5-trimethoxyphenyl)-propylamin (Formel IX) ein Mitosegift sei, konnten wir durch die Prüfung des Stoffes an Fibroblasten in vitro keine Wirkung feststellen<sup>15)</sup>. Wir haben bei unseren Arbeiten stets auch Zwischenprodukte der Synthese einer Substanz auf ihre mitosehemmende Wirkung geprüft und fanden in diesem Falle, daß das  $\alpha$ -(Anisyl)-3,4,5-trimethoxyzimtsäurenitril (Formel X), aus dem das substituierte Propylamin durch Hydrierung hergestellt wird, eine

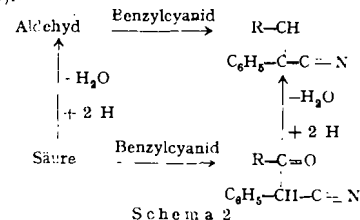


eindeutige Mitosegiftwirkung zeigt. Wir haben bei diesem neuen Typ eines Mitosegiftes die Abhängigkeit der Wirksamkeit von der Substitution und Konstitution untersucht<sup>21)</sup>, wobei dieser Typ hinsichtlich der Substitution sich weitgehend wie die Stilbylamine verhält. Das  $\alpha$ -Phenyl-p-methoxy-zimtsäurenitril (XI) stellt die einfachste wirksame Verbindung dieser Gruppe dar; das gesättigte Nitril, das ungesättigte Säureamid und das durch Hydrierung erhaltene Propylamin zeigen keine Wirkung.

Diese Arbeiten veranlaßten uns zur Beschäftigung mit der Chemie der  $\alpha$ -Phenyl-zimtsäurenitrile, da diese Stoffe weiterhin nach Hydrierung und Hydrolyse zur Carbonsäure auch als Ausgangsmaterialien zur Darstellung der Stilbylamine dienen können. Diese wurden von uns zunächst nach der Methode von Reichert<sup>22)</sup> hergestellt über die Zwischenstufe des Kondensationsproduktes aus einem aromatischen Aldehyd und Phenylhydrazin, das seinerseits aus einem Benzyleyanid stammt (s. Schema 1). Insofern stellt diese Reaktionsfolge nur einen Wechsel in der Reihenfolge der Kombination gleicher Ausgangsmaterialien dar.

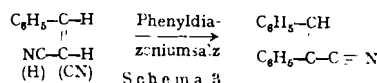


Die Chemie der Darstellung der benötigten aromatischen Aldehyde ist hinlänglich durchgearbeitet; wir haben für unsere Zwecke die Methode von Vilsmeier und Haack<sup>23)</sup>, d. h. die Umsetzung aromatischer Verbindungen mit N-Methylformanilid und Phosphor-oxylchlorid eingehend untersucht<sup>24)</sup> und diese in einer Reihe von Fällen mit Vorteil verwendet. Trotzdem ist in manchen Fällen ein Aldehyd aus einer gegebenen Carbonsäure leichter darzustellen. Die Reduktion der Säure zu Aldehyd läßt sich bei der Darstellung der  $\alpha$ -Phenyl-zimtsäurenitrile umgehen, indem man erst das Kondensationsprodukt aus Säureester und Benzyleyanid der Reduktion unterwirft und aus dem Reduktionsprodukt Wasser abspaltet (s. Schema 2).



Schema 2

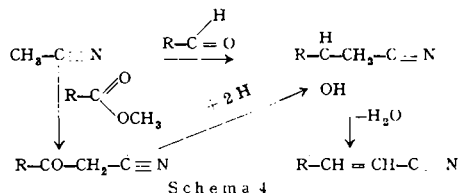
Eine prinzipielle Möglichkeit, die Verwendung eines Benzyleyanids zu umgehen, ist durch den Befund von Meerwein<sup>25)</sup> gegeben, daß Zimtsäurenitril mit einer Diazonium-Verbindung zu einem  $\alpha$ -Aryl-zimtsäurenitril kuppeln kann (s. Schema 3). Leider ist die Ausbeute dieser Reaktion gering, so daß sie nur in besonderen Fällen Vorteil bietet. Trotzdem



Schema 3

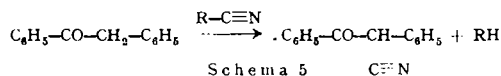
<sup>20)</sup> J. Chem. Soc. [London] 1940, 198.  
<sup>21)</sup> H. Lettré u. Z. Covasneanu, unveröffentl. L. Schäfer, Diplomarbeit Göttingen 1943. A. Jahn, Diplomarbeit Göttingen 1944.  
<sup>22)</sup> B. Reichert u. Hoffmann, Arch. Pharmaz. 274, 153, 219 [1936].  
<sup>23)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. 60, 119 [1927].  
<sup>24)</sup> H. Lettré u. W. Klie, Diplomarbeit Göttingen 1944. H. Kersting, Diplomarbeit Göttingen 1944, Dissert. Göttingen 1947. J. Delitzsch, Dissert. Göttingen 1946.  
<sup>25)</sup> J. prakt. Chemie (2) 152, 237 [1939].

haben wir uns aus diesem Grunde mit der Synthese von Zimtsäurenitrilen beschäftigt<sup>26)</sup> und gefunden, daß auch aliphatische Nitrile mit sehr guten Ausbeuten mit Säureestern, Aldehyden und Ketonen kondensiert werden können, wenn man die Reaktionsbedingungen anwendet, die *Ziegler und Ohlinger*<sup>27)</sup> für die Alkylierung aliphatischer Nitrile ausgearbeitet haben. Es ist so möglich, Zimtsäurenitrile aus Acetonitril und Aldehyden oder Estern in ebenso guter Ausbeute zu erhalten, wie es bisher analog für das Benzyleyanid bekannt war (s. Schema 4).



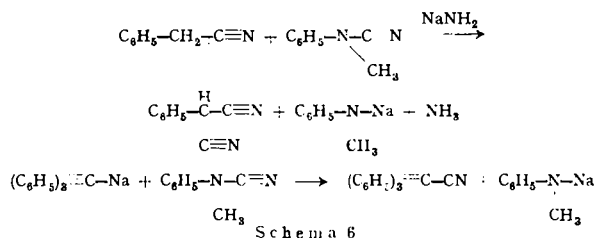
Schema 4

Einen prinzipiell anderen Weg haben wir durch die Versuche zur direkten Cyanierung von Verbindungen mit reaktiven H-Atomen eingeschlagen; es sollte versucht werden, ob Desoxybenzoin in Cyan-desoxybenzoin überführt werden kann, das sich dann weiter in  $\alpha$ -Phenyl-zimtsäurenitril umwandeln läßt (s. Schema 5). Nach unseren Erfahrungen,



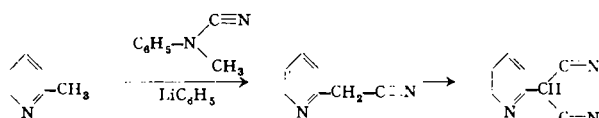
Schema 5

daß in manchen Fällen N-disubstituierte Säureamide bei Kondensationen Estern überlegen sind, haben wir das N-Methyl-cyananilid, das als Säureamid der Cyansäure aufgefaßt werden kann, auf sein Verhalten gegen metallorganische Verbindungen untersucht. Wir fanden zunächst, daß Benzyleyanid mit dieser Substanz bei Gegenwart von Natriumamid in Phenyl-malodinitril übergeht<sup>28)</sup>. Triphenylmethyl-natrium geht quantitativ in das Triphenyl-essigsäurenitril über (s. Schema 6); Desoxybenzoin hingegen ließ sich nicht in der gewünschten Weise umsetzen. Bei



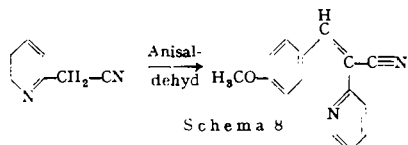
Schema 6

Heterocyclen mit reaktiver Methyl-Gruppe wie  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Picolin, Chinaldin und 9-Methylacridin ließ sich unter Verwendung von Lithiumphenyl als Kondensationsmittel eine direkte Substitution von H-Atomen durch die Cyan-Gruppe erreichen, und zwar konnte z. B. beim  $\alpha$ -Picolin durch Variation der Versuchsbedingungen eine gleichzeitige Einführung von zwei Cyan-Gruppen oder aber nur einer erzielt werden (s. Schema 7).



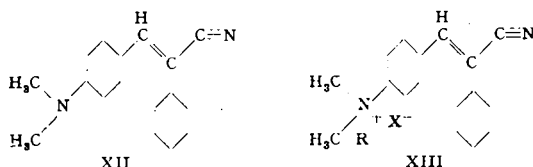
Schema 7

Die Pyridyl-, Chinolyl- oder Acridyl-acetonitrile konnten mit Aldehyden kondensiert werden und führten in diesen Reaktionsprodukten bei geeigneter Substitution zu wirksamen Mitosegiften (s. Schema 8).



Schema 8

An den  $\alpha$ -Phenyl-zimtsäurenitrilen haben wir den Einfluß einer bestimmten Substitutionsart eingehend untersucht: wir fanden, daß das  $\alpha$ -Phenyl-p-dimethylamino-zimtsäurenitril (Formel XII) wirksam ist, während die durch Anlagerung von Halogenalkyl erhaltenen quartären Ammonium-Verbindungen (Formel XIII) keine Wirkung mehr zeigen. Wir stellten es uns zur Aufgabe, solche quartäre Ammonium-Verbindungen herzustellen, die sich leicht durch Reduktion wieder in das tertiäre



XII

XIII

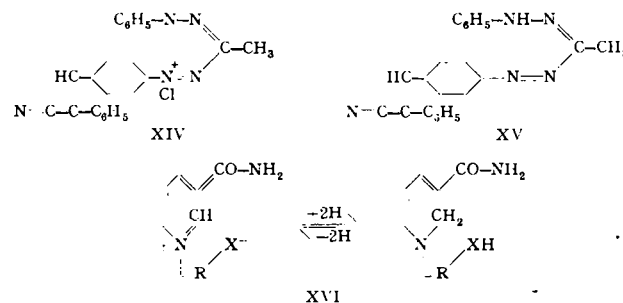
<sup>26)</sup> H. Lettré, G. Meiners u. H. Wichmann, Naturwiss. 33, 157 [1946].

<sup>27)</sup> Liebigs Ann. Chem. 495, 84 [1932].

<sup>28)</sup> H. Lettré, J. Ch. Salfeld u. P. Jungmann, Diplomarbeit P. Jungmann, Göttingen 1944, Dissert. Göttingen 1948.

Amin zurückverwandeln lassen. In der chemischen Methodik ist diese Reaktion als *Emdescher Abbau* bekannt; es zeigte sich jedoch, daß Radikale wie Benzyl- und Allyl-, die chemisch durch Reduktion aus einer quartären Ammonium-Verbindung entfernt werden können, durch die Zelle nicht reaktiv entfernt werden können, d. h. die mit ihnen hergestellten quartären Ammonium-Verbindungen zeigen keine Wirksamkeit. Das N-Oxyd der Verbindung kann als quartäre Ammonium-Verbindung aufgefaßt werden; es ist die einzige Verbindung, die Wirkung als Mitosegift zeigt. Die quantitative Wirksamkeit der  $\alpha$ -Phenyl-zimtsäurenitrile ist gering, so daß dieser Befund nur als Modell für andere Mitosegifte Bedeutung hat; auf diesem Wege läßt sich eine Herabsetzung der Toxizität erreichen.

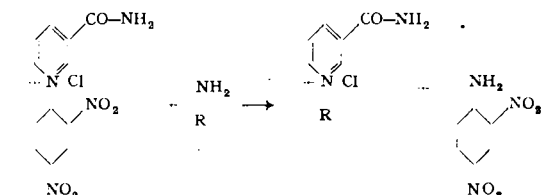
Daß eine Reduktion quartärer Ammonium-Verbindungen zu tertiären Aminen durch Zellfermente möglich ist, hat R. Kuhn<sup>29)</sup> an den Tetrazolium-Verbindungen zeigen können. Das farblose Triphenyl-tetrazoliumchlorid beispielsweise wird von pflanzlichen und tierischen Zellen in das tiefrote Triphenylformazan übergeführt. Wir haben daher eine vom  $\alpha$ -Phenyl-zimtsäurenitril abgeleitete Tetrazolium-Verbindung (XIV) dargestellt<sup>30)</sup>. Diese farblose Verbindung wird von Fibroblasten in vitro in das gelbrote Formazan XV übergeführt, also reduziert; das schwerlösliche Formazan zeigt aber keine Mitosegiftwirkung<sup>31)</sup>. Auf Grund ihres besseren Eindringungsvermögens in die tierische Zelle zeigt die Verbindung XIV Vorteile gegenüber dem Triphenyl-tetrazoliumchlorid zum Nachweis reduzierender Fermente<sup>32)</sup>.



XVI

Die Co-dehydrase führt bei dem Wechsel zwischen hydrierter und oxydierter Form den reversiblen Übergang eines tertiären Amins in eine quartäre Ammonium-Verbindung durch (XVI). Es lag daher nahe, dieses zelleigene System als Modell für unsere Fragestellung zu verwenden.

P. Karrer<sup>33)</sup> hat aus Nicotinsäureamid durch Anlagerung aliphatischer Halogenverbindungen eine Reihe von Modellverbindungen der Co-dehydrase dargestellt. Diese Methode beschränkt sich auf die Anlagerung solcher Radikale, an denen das Halogen hinreichende Reaktivität besitzt. Für unsere Zwecke kam es auf eine Methode an, mit der ein gegebenes primäres Amin in das quartäre Derivat des Nicotinsäureamids übergeführt werden kann. Nach Zincke<sup>34)</sup> geht das Anlagerungsprodukt von 2,4-Dinitro-chlorbenzol an Pyridin beim Umsatz mit primären Aminen (unter intermediärer Ringöffnung zu Derivaten des Glutacondialdehyds) in quartäre Pyridinium-Verbindungen über. Wir haben nun gefunden, daß die gleiche Reaktionsfolge mit Nicotinsäureamid möglich ist (s. Schema 9)<sup>35)</sup>. Dadurch sind eine Reihe von Derivaten des Pyridinium-



Schema 9. Darstellung von Pyridinium-3-carbonsäureamid-Derivaten aus primären Aminen.

3-carbonsäureamids zugänglich geworden, die nach der von Karrer verwendeten Methode nicht zugänglich sind.

Wir haben auf diese Weise Stilbylamine und Colchicin-Derivate in glatter Reaktion in die Derivate des Nicotinsäureamids überführen können. Die Substanzen zeigen nur in der reduzierten Form eine mitosehemmende Wirkung.

<sup>29)</sup> R. Kuhn u. D. Jerchel, Ber. dtsch. chem. Ges. 74, 949 [1941].

<sup>30)</sup> H. Lettré u. W. Haede, Dissert. Göttingen 1947.

<sup>31)</sup> H. Lettré, Z. Krebsforsch. 56, 302 [1948].

<sup>32)</sup> H. A. Hölscher, ebenda 56, 587 [1950]; 57, 353 [1951].

<sup>33)</sup> Helv. chim. Acta 20, 78 [1937].

<sup>34)</sup> Liebigs Ann. Chem. 333, 296, 329 [1904].

<sup>35)</sup> H. Lettré u. E. Ruhbaum, Dissert. Göttingen 1950.

### 3. Metallorganische Verbindungen

Die Entdeckung der Mitosegiftwirkung metallorganischer Verbindungen wurde angeregt durch A. Klages, der mit quecksilberorganischen Verbindungen, als er sie auf ihre Wirkung als Saatgutbeizmittel prüfte, bei keimenden Samen Polyploidie beobachtete. Anfang 1943 haben wir quecksilberorganische Verbindungen auf ihre Wirkung an Hühnerherz-Fibroblasten geprüft und mitosehemmende Wirkung festgestellt<sup>36</sup>). Zahlreiche Verbindungen vom Typ Hg-R-X erwiesen sich als wirksam, wobei R ein aliphatisches oder aromatisches organisches Radikal und X ein beliebiges Anion bedeutet. Anorganische Quecksilbersalze wie HgCl<sub>2</sub> und Hg(CN)<sub>2</sub>, sowie völlig mit organischen Radikalen substituierte Quecksilber-Verbindungen wie Quecksilberdiphenyl erwiesen sich als unwirksam. Gleichartiges Verhalten zeigten andere Metalle wie Blei, Wismut, Zinn, Arsen und Antimon, bei denen auch nur die gemischten organisch-anorganischen Verbindungen eine Mitosegiftwirkung zeigten<sup>37</sup>).

### 4. Chinone

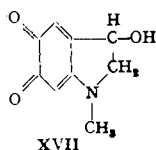
Die zellteilungshemmende Wirkung von Chinonen wurde von E. F. Lehmann<sup>38</sup>) entdeckt und von seiner Schule eingehend untersucht. Als Testobjekt verwendete er Eier von Tubifex (Ringelwurm), der während des ganzen Jahres Eier legt und dadurch jederzeit für experimentelle Untersuchungen zur Verfügung steht. Lehmann fand eine außerordentlich starke Wirkung von Benzochinon, Naphthochinon und Phenanthrenchinon, die die Wirksamkeit von Colchicin an diesem Objekt noch übertreffen (Tab. 6).

Antimitoticum	Bei Tubifex wirksame Minimalkonzentration
Stilböstrol .....	1 : 300 000
Colchicin .....	1 : 30 000
Benzochinon .....	1 : 2 000 000
Naphthochinon .....	1 : 900 000
Phenanthrenchinon .....	1 : 3 000 000

Tabelle 6

Den Wirkungsmechanismus dieser Chinone hat man sich wohl in einer Reaktion mit SH-Gruppen vorzustellen. R. Kuhn und H. Beinert<sup>39</sup>) fanden, daß p-Benzochinon Cystein addieren kann, und in diesem Sinne würde die Wirkung auf eine SH-Gruppen-Blockierung herauslaufen.

Zur Prüfung des Adrenalins an Gewebekulturen sind wir durch die Parallele bei den Mitosegiften vom Typ der Stilbylamine gekommen, da in diesen die sympathicomimetische Gruppierung der Phenyläthylamine enthalten sein muß<sup>40</sup>). Zahlreiche Vertreter dieser Stoffklasse wie Mescaline, Tyramin, Corbasil, Suprifen u. a. erwiesen sich als unwirksam. Nur Adrenalin zeigt mit einer Dosis von 100 γ/cm<sup>3</sup> eine eindeutige Wirkung. Das Medium der Gewebekulturen färbt sich nach Zusatz von Adrenalin rotbraun, so daß die Bildung eines Oxydationsproduktes anzunehmen ist, das tatsächlich die Mitosegiftwirkung bedingt. Adrenalin können wir daher als ein Promitosegift bezeichnen. Gleichzeitiger Zusatz von Vitamin C oder Glutathion verhindert die Oxydation des Adrenalins und damit auch das Auftreten einer Mitosehemmung. Ich habe lange Zeit nach einem Oxydationsprodukt gesucht, das in seiner Konstitution zu den Stilbylaminen in Beziehung stünde. 1947 haben wir gefunden, daß reines Adrenochrom diese Wirkung besitzt<sup>41</sup>). Adrenochrom wurde zuerst von Green und Richter<sup>42</sup>) rein dargestellt und seine Konstitution (XVII) ermittelt.



XVII

Nach diesem Ergebnis müssen wir annehmen, daß das wirksame Produkt aus Adrenalin durch seinen Chinon-Charakter auf die Zellteilung wirkt.

<sup>36</sup>) A. Klages, diese Ztschr. 58, 41 [1945].

<sup>37</sup>) H. Lettré u. H. Telschow, Diplomarbeit Göttingen 1946.

H. Lettré u. J. Kibaitis, Diplomarbeit Göttingen 1948.

<sup>38</sup>) Experientia 3, 223 [1947].

<sup>39</sup>) Ber. dtsch. chem. Ges. 76, 904 [1943]; 77, 606 [1944].

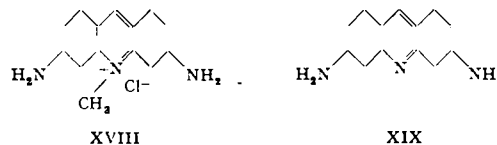
<sup>40</sup>) H. Lettré u. M. Albrecht, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 271, 200 [1941].

<sup>41</sup>) H. Lettré u. W. Riemenschneider, Diplomarbeit Göttingen 1948. H. Lettré, R. Lettré u. W. Riemenschneider, Naturwiss. 38, 282 [1951].

<sup>42</sup>) Biochemic. J. 31, 596 [1937].

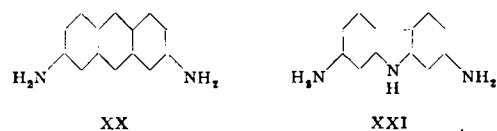
### 5. Mitosegifte vom Typ des Trypaflavins

Trypaflavin ist das Chlormethylat des 3,6-Diaminoacridins (XVIII). Seine Wirkung läßt sich sowohl an Hühnerherzfibroblasten<sup>43</sup>) wie am Mäuseascitestumor<sup>44</sup>) nachweisen. Unsere ersten Untersuchungen richteten sich auf die Frage, welche der Substituenten in der Molekel für die Wirksamkeit notwendig sind<sup>45</sup>). Proflavin, das 3,6-Diaminoacridin (XIX), zeigt qualitativ und quantitativ die gleiche Wirksamkeit, während Acridin und Acridin-chlormethylat keine Wirkung besitzen. Es sind also die beiden Amino-Gruppen im Acridin-Skelett für die Wirkung notwendig. Wir prüften nun, ob eine Molekel von der gleichen Form wie Proflavin und mit dem gleichen Abstand der Amino-Gruppen auch diese Wirkung besitzt. Eine solche Verbindung ist das 2,7-Diamino-anthracen (XX). Es zeigt auch in hohen Dosen keine zellteilungshemmende Wirkung. Auch das 2,7-Diaminocarbazol (XXI) besitzt keine Wirkung. Ebenso sind dem



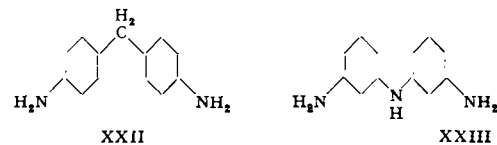
XVIII

XIX



XX

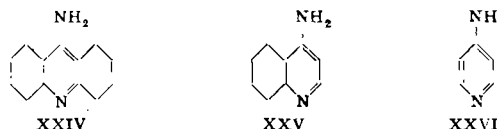
XXI



XXII

XXIII

Proflavin analog gebaute „offene“ Molekeln wie das p-Diaminodiphenylmethan (XXII) und das m-Diaminodiphenylamin (XXIII) ohne Wirkung. Die Analogie zu der Form der Molekel des Proflavins ist demnach für die Wirkung entscheidend. Weitere Aufschlüsse brachte die Untersuchung der Mono-aminoacridine. Von den geprüften 3-, 4- und 9-Aminoacridinen erwiesen sich nur das 3- und 9-Derivat als wirksam, während das 4-Amino-Derivat keine Wirkung zeigte. Quantitativ ist die Wirksamkeit stark abgesunken, man benötigt an Hühnerherz-Fibroblasten bis zu 100 γ/cm<sup>3</sup>, während Proflavin noch mit 2 γ/cm<sup>3</sup> wirksam ist. Vom 9-Aminoacridin (XXIV) ausgehend gelang es, weitere wirksame Molekeln zu finden. Die flankierenden Benzol-Kerne können weggelassen werden, ohne daß die Wirkung verschwindet. 4-Aminochinolin (XXV) und 4-Aminopyridin (XXVI) zeigen ebenfalls eine teilungshemmende Wirkung.



XXIV

XXV

XXVI

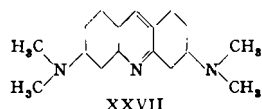
Das 4-Aminopyridin ist die einfachste Molekel mit dieser Wirkung, die sich von Trypaflavin ausgehend finden läßt. Pyridin selbst besitzt nach unseren früheren Untersuchungen keine teilungshemmende Wirkung. Der Vergleich der drei isomeren Aminopyridine zeigte weiter, daß nur das 2- und 4-Aminopyridin wirksam sind, während das 3-Aminopyridin auch in hohen Dosen wirkungslos ist. Das unwirksame 3-Aminopyridin unterscheidet sich chemisch von den beiden anderen wirksamen Isomeren dadurch, daß es nicht in einer tautomeren Form auftreten kann, während die wirksamen Isomeren die Möglichkeit zur Bildung einer Diimin-Form nach Tschischibabin haben. Auch bei den Aminoacridinen und Aminochinolin ist die Wirksamkeit mit der Tautomeriemöglichkeit verknüpft, da alle wirksamen Amino-Derivate auch tautomeriefähig sind, während die unwirksamen

<sup>43</sup>) O. Bucher, Z. Zellforsch. 29, 283 [1939]; 30, 438 [1940].

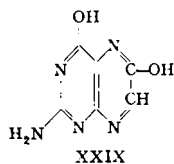
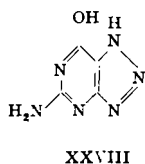
<sup>44</sup>) H. Lettré, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 271, 192 [1941].

<sup>45</sup>) H. Lettré, Naturwiss. 33, 75 [1946]; Z. Krebsforsch. 56, 5 [1948]; diese Ztschr. 60, 164 [1948]. An der Durchführung dieser Untersuchungen haben sich meine Mitarbeiter Bauer, Fr. Carl, Fritsch, Jacobsen, Knop, Korte, Fr. Lerch und Wenghöfer (Diplomarbeit u. Dissert. Göttingen 1946—1948) beteiligt.

diese Tautomerie nicht zeigen. Die Unwirksamkeit ähnlich gebauter aromatischer Amine fügt sich dieser Parallele ein, so daß wir zusammenfassend sagen können, daß Aminoacridine, -chinoline und -pyridine eine zellteilungshemmende Wirkung haben, wenn sie in einer tautomeren Diimin-Form auftreten können. Für Acridin-Derivate ist hinsichtlich der Wirkung auf Bakterien und bei Chinolin-Derivaten von Schönhöfer<sup>46)</sup> hinsichtlich der Malariawirkung auf die Bedeutung dieser Tautomeriemöglichkeit hingewiesen worden. Analog wie die Wirkung des Plasmochins durch weitere Alkylierung am Stickstoff aufgehoben wird, so verschwindet auch die Mitosegiftwirkung durch Alkylierung des Proflavins zum Acridinorange (XXVII) völlig.

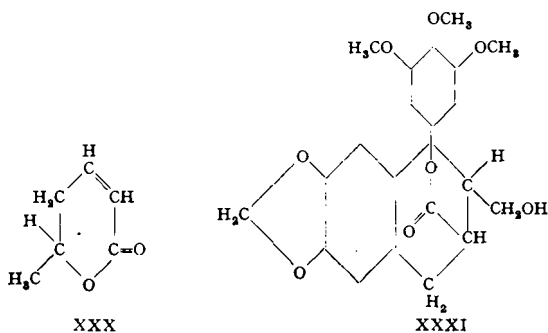


Wenn wir die Mitosegifte vom Trypaflavin-Typ als Antagonisten der Purine und Pyrimidine in den Nucleinsäuren ansehen, so müßte sich daraus als experimentell prüfbare Folgerung ergeben, daß alle Verbindungen, die wir im chemischen Sinne als abgewandelte Purine und Pyrimidine auffassen können, Mitosegifte vom Trypaflavin-Typ sind. Das ist aber nicht allgemein zutreffend. Es gelingt zwar, die Wirksamkeit der Grundtypen der Aminopyridine dadurch zu steigern, daß man sie durch Substitution den natürlichen Pyrimidinen ähnlicher macht, so ist z. B. das 6-Methoxy-2-aminopyridin stärker wirksam als das 2-Aminopyridin selbst, da das methoxyl-haltige Derivat dem Cytosin ähnlicher ist. Hingegen zeigte eine Reihe von synthetischen Analogen keine Wirkung an Hühnerherzfibroblasten, z. B. Aminothiazole, Chinazoline und Triazine. Besonders interessant ist der Befund, daß das Stickstoff-Analoge des Guanins (XXVIII), das von Roblin<sup>47)</sup> bei Bakterien als wachstumshemmend befunden wurde und dessen Wirkung durch Guanin wieder aufgehoben wird, also bei Bakterien sicher ein antagonistischer Hemmstoff ist, bei Hühnerherzfibroblasten bis 100/cm<sup>3</sup> keine Mitosehemmung bewirkte. Auch „cytostatische“ Stoffe wie Alloxan und Thiouracil zeigten keine Teilungshemmung. Hingegen zeigte das Xanthoprotein (XXIX) eine deutliche mitosehemmende Wirkung<sup>48)</sup>.



## 6. Verschiedene

Unter Blastokolinen versteht man Hemmstoffe, die sich in fleischigen Früchten befinden und die Keimung des Samens verhindern. Ihre chemische Natur wurde vor allem von R. Kuhn und seiner Schule (s. Moewus<sup>49)</sup>) untersucht und es wurde festgestellt, daß es sich um ungesättigte Lactone (XXX) handelt. Diese Verbindungen haben auf Hühnerherzfibroblasten eine wachstumshemmende Wirkung, die nicht unmittelbar einer Mitosehemmung entspricht. Jedoch zeigt z. B. das Podophyllo-toxin aus dem Podophyllumharz eine eindeutige Mitosegiftwirkung (Hartwell und Shear<sup>50)</sup>, Ormsbree und Cornman<sup>51)</sup>, MacCardle und Downing<sup>52)</sup>), die quantitativ der des Colchicins entspricht.



<sup>46)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 274, 119 [1942].

<sup>47)</sup> J. Amer. Chem. Soc. 67, 290, 1297 [1945].

<sup>48)</sup> H. Lettré u. Ch. Landschütz, Naturwiss. 34, 345 [1947].

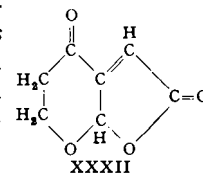
<sup>49)</sup> Fiat-Review, Biochemie 11, 185.

<sup>50)</sup> Cancer Res. 7, 716 [1947].

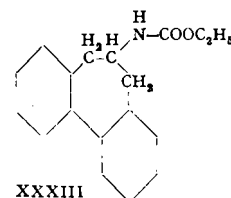
<sup>51)</sup> Ebenda 7, 717 [1947].

<sup>52)</sup> Ebenda 7, 717 [1947].

Die Konstitutionsformel dieser Verbindung (XXXI), die von Borsche<sup>53)</sup>, Späth<sup>54)</sup> und Robertson<sup>55)</sup> aufgestellt wurde, zeigt, daß es sich um ein Lacton handelt. Podophyllotoxin wird von einem Isomeren, dem Pikropodophyllin begleitet, das keine Mitosegiftwirkung zeigt. Das Pikropodophyllin ist das stabile Isomerisierungsprodukt und ich nehme daher an, daß das labile Lacton innerhalb der Zelle mit einem Zellbestandteil reagiert, während das stabile Lacton hierzu nicht befähigt ist. Diese Zusammenhänge legen weiter den Gedanken nahe, daß auch die Wirkung der Blastokoline durch ihren Lacton-Charakter bestimmt ist, wie es auch von Moewus diskutiert wird, und in einer intracellulären Reaktion besteht. Hierfür sprechen weiterhin noch Ergebnisse über die Wirkung des Patulins (XXXII). Patulin wurde von Raistrick<sup>56)</sup> aus *Penicillium patulum* isoliert und erwies sich als ein kräftiges Antibiotikum gegenüber Bakterien. Auch als Blastokolin hat es eine starke Wirkung, gemessen an der Hemmung der Keimung von pflanzlichen Samen (s. Wallenfels<sup>57)</sup>). Vollmar<sup>58)</sup> beschrieb seine hemmende Wirkung auf normale und Tumorzellen. Wir selbst fanden eine starke wachstumshemmende Wirkung am Mäuseascitestumor. Keilova-Rodova<sup>59)</sup> fand bei Hühnerherzfibroblasten eine deutliche Hemmung der Mitose, wenn Patulin nach dem Auswachsen von Zellen zu den Kulturen gegeben wurde. In diese Gruppe von teilungshemmenden Lactonen fügt sich auch das Cumarin ein. Wir können allgemein sagen, daß ein Lacton, dessen Reaktionsfähigkeit nicht so groß ist, daß es schon durch Wasser unwirksam gemacht wird, das aber eine ausreichende Reaktionsfähigkeit besitzt, eine teilungshemmende Wirkung durch Reaktion mit einem Zellbestandteil entfalten kann.



Ludford<sup>60)</sup> beschrieb eine Schädigung der Metaphase eines in vitro gezüchteten Mäusecarcinoms durch Äthylurethan. 1946 berichteten Haddow und Sexton<sup>61)</sup> über die Beeinflussung tierischer Tumoren durch Äthylurethan. Nach Rose (zit. bei Dustin<sup>62)</sup>) kann man die Wirkung des Urethans deuten durch eine Reaktion mit einer Amino-Gruppe eines Zellbestandteils. Demgemäß kann der Angriff des Urethans in der Zelle morphologisch verschiedenartigsten Charakter haben. H. Marquardt<sup>63)</sup> sieht im Urethan sogar den Typ des reinen Ruhekerngiftes, dessen Wirkung sich sekundär in dem Mitosebild der geschädigten Zelle kundtut. Es ist eine Frage des Zeitpunktes der Einwirkung des Urethans auf die betreffende Zelle. Das in Formel XXXIII dargestellte komplizierte Urethan, das wir synthetisiert haben<sup>64)</sup>, erwies sich als ein typisches Mitosegift. Der Gedanke einer intracellulären Reaktion der Urethane unter Abspaltung von Alkohol führt zu der Prüfung der die gleichen Reaktionsprodukte liefernden Isocyanate. Auf Anregung von O. Bayer, Leverkusen, haben wir eine Reihe von Isocyanaten untersucht und mit ihnen gleiche Wirkungen wie mit Urethan gefunden.



Von Schütz<sup>65)</sup> wurde weiterhin das Ammoniumcyanat als Antimitotikum in Betracht gezogen und durch Dustin jr.<sup>62)</sup> diese Wirkung nachgewiesen. Schütz konnte zeigen, daß Harnstoff in wäßriger Lösung im Gleichgewicht mit Ammoniumcyanat steht, und er konnte weiter nachweisen, daß eine fortgesetzte Injektion von Ammoniumcyanat bei wachsenden Tieren zu einer Hemmung des Wachstums führt. Katzen aus dem gleichen Wurf zeigten eine beträchtliche Verminderung der Größe und des Gewichts der behandelten Tiere. Es liegt nahe, daß Ammoniumcyanat physiologisch in der Synthese der Purine und Pyrimidine eine wichtige Rolle spielen kann, daß aber ein Überschuß dieses Stoffes Blockierungen anderer Zellprozesse hervorrufen kann.

<sup>53)</sup> Liebigs Ann. Chem. 494, 126 [1932].

<sup>54)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. 63, 1536, 1773 [1932].

<sup>55)</sup> J. Chem. Soc. [London] 1933, 83.

<sup>56)</sup> Biochemic. J. 30, 394 [1936].

<sup>57)</sup> Diese Ztschr. 58, 1 [1945].

<sup>58)</sup> Z. Hygiene 127, 316 [1947].

<sup>59)</sup> Experientia 5, 242 [1949].

<sup>60)</sup> Arch. exp. Zellforsch. 18, 411 [1936].

<sup>61)</sup> Nature [London] 157, 500 [1946].

<sup>62)</sup> Ebenda 159, 794 [1947].

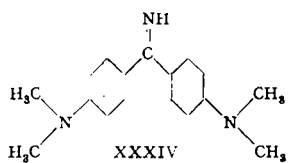
<sup>63)</sup> Ärztl. Forsch. 2, 407 [1948].

<sup>64)</sup> H. Lettré u. H. Wichmann, Dissert. Göttingen 1947.

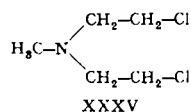
<sup>65)</sup> Experientia 5, 133 [1949].



Es sollen noch einige Verbindungen erwähnt werden, deren Einreihung zu bestimmten Wirktypen noch nicht durchgeführt ist, und andererseits Stoffe, bei denen die Bezeichnung als Mitosegift durch ihren Wirkungsmechanismus fraglich erscheint. Von *Ludford*<sup>66)</sup> wurde eine Mitosehemmung und -störung durch Auramin beschrieben. Auramin (XXXIV) ist das Imin eines



substituierter Benzophenons. Es zeigt in seinem Aufbau gewisse Ähnlichkeiten mit 9-Aminoacridinen, doch ist die Frage noch nicht entschieden, ob es ihnen im Wirkungsmodus gleicht. Die von *Dustin jr.*<sup>66)</sup> beschriebene Mitosestörung durch Hydrochinon ist chemisch noch nicht weiter bearbeitet, möglicherweise läßt sie sich auf eine Chinon-Bildung zurückführen. Die Gruppe der Senfgastypen (XXXV), (nitrogen mustard), N-Lost, hat durch ihre Anwendung in der Tumorthherapie große Bedeutung erlangt.



Die Analyse der Wirkung des Stickstofflosts ergab, daß es sehr stark die Hexokinase hemmt (*Dixon*<sup>67)</sup>). Die Wirkung auf die Zellteilung besteht morphologisch in sehr starken Chromosomen-Veränderungen (*Darlington*<sup>68)</sup>), und da auch eine mutagene Wirkung dieser Verbindungen nachgewiesen ist (*Auerbach*<sup>69)</sup>), kann man ihr ein breites Wirkungsspektrum innerhalb der Zelle zu-messen, wobei die teilungshemmenden Effekte zwar einen starken, aber wie bei der Röntgenbestrahlung zufälligen Anteil dar-stellen. *Friedmann, Marrian und Simon-Reuss*<sup>70)</sup> beschreiben neuerdings eine antimitotische Wirkung des Maleinsäure-imids und Homologer, während Succinimid keine Wirkung hat. Der Effekt wird durch eine Anlagerung von SH-Gruppen ge-deutet.

#### F) Antagonisten und Synergisten der Mitosegifte

Für die wichtigsten Typen von Mitosegiften kann heute der Angriffspunkt innerhalb der Zelle und während der Teilung an-gegeben werden. Die Feststellung der Angriffspunkte fußt 1. auf dem morphologischen Bild der Wirkung des Mitosegiftes und 2. auf dem Nachweis von Faktoren mit antagonistischer und sy-nergistischer Wirkung. Nach *Bauch*<sup>71)</sup> und nach *Bucher*<sup>43)</sup> ist, morphologisch gesehen, das Trypaflavin ein typisches Chromosomengift, das Verklebungen und Verklumpungen (Pyknose) der Chromosomen hervorruft. Chemisch gesehen kommen diese Effekte durch die Bildung von Anlagerungsverbin-dungen des Trypaflavins mit der Nucleinsäure der Chromosomen (der Thymonucleinsäure) zustande.

Wir konnten die Mitosegiftwirkung des Trypaflavins an Fibro-blasten in vitro durch Zugabe von Nucleinsäuren (Ribo- oder Thymo-) aufheben<sup>72)</sup>, analog den Befunden von *McIlwain*<sup>73)</sup> bei Bakterien. *H. Brodersen*<sup>74)</sup> fand, daß Trypaflavin die Zahl der Mitosen im Mäuse-Ascites-Tumor nach der Injektion herabsetzt, ein Ergebnis, das durch die Störung des für den Mitoseablauf not-wendigen Chemismus der Nucleinsäuren zu deuten ist. Der An-griffspunkt auf die Chromosomen läßt sich morphologisch am leichtesten feststellen; fermentchemisch läßt sich zeigen, daß Trypaflavin aber ebenso stark mit den ribonucleinsäure-haltigen Mitochondrien des Zellplasmas reagiert<sup>32,75)</sup>. Prinzipiell wichtig erscheint unser Befund<sup>76)</sup>, daß zur Zeit des Mitoseminimums im Mäuse-Ascites-Tumor der amitotische Teilungstyp (direkte Kerndurchschnürung ohne Chromosomenabscheidung) vermehrt auftritt. Durch Trypaflavin wird auch die Polymerisation von

Vorstufen der Thymonucleinsäure verhindert, so daß es nicht zur Chromatin-Abscheidung kommt. Insgesamt läßt sich die Wirkung des Trypaflavins chemisch und morphologisch befriedi-gend durch seine Reaktion mit den Nucleinsäuren der Zelle, und zwar sowohl mit der Ribonucleinsäure des Zellplasmas als mit der Thymonucleinsäure des Zellkerns, deuten; Dosis und Zeit-punkt der Einwirkung auf die Zelle bedingen die Modifikationen des Erscheinungsbildes.

Die Wirkung metallorganischer Verbindungen konnten wir durch Zugabe von Cystein und anderen SH-Gruppen-haltigen Verbindungen aufheben<sup>77)</sup>. Ihr Wirkungsmechanismus besteht danach in einer Inaktivierung funktionell bedeutsamer SH-Gruppen. Es gibt zahlreiche Fermente, deren Aktivität von der Anwesenheit freier SH-Gruppen abhängt, die zwar für den Zellstoffwechsel, aber nicht unmittelbar für die Mitose bedeut-sam sind. Jedoch erreicht nach *L. Rapkine*<sup>78)</sup> die Zahl der freien SH-Gruppen vor der Teilung der Zelle einen Maximalwert, so daß zu diesem Zeitpunkt zahlreiche Angriffspunkte für die metall-organischen Verbindungen vorhanden sind, die für die Zellteilung Bedeutung haben. Nach *Godeaux*<sup>79)</sup> verliert kontraktiles Acto-myosin diese Fähigkeit durch SH-Gruppen-Gifte, so daß die Mitosegiftwirkung metallorganischer Verbindungen durch eine Hemmung von für die Zellteilung notwendigen kontraktilen Sys-temen zustande kommen kann.

Der Wirkungsmechanismus des Colchicins konnte zu-nächst weniger durch antagonistisch wirkende als durch sy-nergistisch wirkende Verbindungen geklärt werden. Im Laufe der letzten Jahre haben wir eine große Zahl von Stoffen gefunden, welche die Wirkung des Colchicins an Fibroblasten in der Gewebe-kultur verstärken<sup>80)</sup>. In Tabelle 7 sind derartige Substanzen zu-sammengestellt, die chemisch den verschiedenartigsten Stoff-klassen angehören. Eine Ordnung dieser Stoffe ergibt sich ex-perimentell durch eine Einteilung der Synergisten in 2 Gruppen,

Tryptamin	Veratrin
Phlorrhizin	Stilbylamine
Aporphin-alkaloide	Steroidhormone
Bulbocapnin	Testosteron
Benzyl-isochinolin-alkaloide	Oestron
Papaverin	Desoxy-corticosteron
Berberin-alkaloide	Cortison
Chelerythrin	Azetol
Chinin	Benzpyren

Tabelle 7. Synergisten des Colchicins

je nachdem, ob der Synergist für seine Wirkung einen Schwellen-wert an Colchicin benötigt oder ob er eine unterschwellige Dosis wirksam machen kann. In Bild 4 ist der synergistische Effekt des

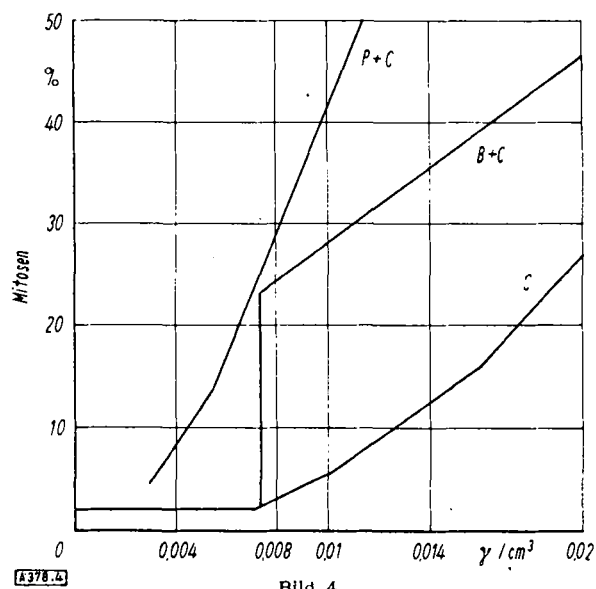


Bild 4  
Prozentzahl der Mitosen in Abhängigkeit von der Konzentration von Colchi-cin (γ/cm³) bei Fibroblasten. C = Colchicin alleine γ/cm³. B + C = Col-chicin mit Zusatz von 8 γ/cm³ Bulbocapnin. P + C = Colchicin mit Zusatz von 94 γ/cm³ Phlorrhizin

<sup>66)</sup> Nature [London] 161, 527 [1948].

<sup>67)</sup> M. Dixon u. Needham, ebenda 158, 432 [1946].

<sup>68)</sup> C. D. Darlington u. P. C. Koller, Heredity 1, 187 [1947].

<sup>69)</sup> Science [New York] 105, 243 [1947].

<sup>70)</sup> Brit. J. Pharmacol. Chemotherap. 4, 105 [1949].

<sup>71)</sup> Naturwiss. 34, 346 [1947].

<sup>72)</sup> H. Lettré u. R. Lettré, Naturwiss. 33, 283 [1946].

<sup>73)</sup> Biochemic. J. 35, 1311 [1947].

<sup>74)</sup> Strahlentherap. 73, 196 [1943].

<sup>75)</sup> H. Lettré, diese Ztschr. 62, 174 [1950].

<sup>76)</sup> H. Lettré u. A. Schleich, Dissert. Heidelberg 1949.

<sup>77)</sup> H. Lettré u. R. Lettré, Naturwiss. 34, 127 [1947].

<sup>78)</sup> L. Rapkine, zit. nach J. Brachet: Embryologie chimique, Paris 1947.

<sup>79)</sup> Bull. Soc. roy. Liège 1944, 216.

<sup>80)</sup> H. Lettré, R. Lettré u. Ch. Pflanz, Naturwiss. 37, 378, 563 [1950]; 38, 13, 70, 214 [1951]; Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 286, 138, 212 [1950]; 287, 53, 150 [1951]. H. Lettré, Arzneimittelforschg. 1, 3 [1951]. H. Lettré, Ch. Landschütz u. J. Nobel, Klin. Wschr. 1951, 29.



Phlorrhizins einerseits und des Bulbocapnins andererseits dargestellt. Man sieht deutlich, daß Bulbocapnin erst dann eine verstärkende Wirkung hat, wenn eine allein schon wirksame Dosis von Colchicin vorhanden ist, während Phlorrhizin auch die Wirksamkeit unterschwelliger Colchicin-Dosen hervorruft. Beide Stoffe alleine haben keine Mitosegiftwirkung.

Diese Befunde lassen sich dadurch deuten, daß man eine Wirkung des Colchicins in dem Komplex der Faktoren annimmt, die zu dem Prozeß der Kontraktilität in Beziehung stehen; die Kontraktion der Zellspindel bei der Auseinanderführung der Chromosomen und die Einschnürung der Zelle bei der Teilung werden so in Analogie zur Muskelkontraktion gebracht. Es ist bemerkenswert, daß aus dieser Parallele, die von seiten der Morphologen schon lange diskutiert wurde (vgl. *Heidenhain*<sup>81)</sup>), die Konsequenz einer Übereinstimmung des Chemismus erst 1947 gezogen wurde. *J. Brachet*<sup>78)</sup> sprach die Vermutung aus, daß bei der Spindelkontraktion die Spaltung der Adenosin-triphosphorsäure die gleiche energieliefernde Rolle spielt wie bei der Muskelkontraktion. Nach *v. Engelhardt*<sup>82)</sup> und *Szent-Györgyi*<sup>83)</sup> kann aus dem Muskel isoliertes in Fadenform gefälltes Actomyosin durch Adenosin-triphosphorsäure zur Kontraktion gebracht werden. Im Muskel und in der Zelle kann die für die Kontraktion notwendige Adenosin-triphosphorsäure aus Kreatinphosphorsäure und weiterhin aus dem glykolytischen und oxydativen Abbau der Kohlenhydrate regeneriert werden. Da Colchicin in den zur Teilungshemmung notwendigen Dosen weder die Glykolyse noch die Atmung hemmt (hierzu ist die tausendfache Menge notwendig), kann es mit den hierzu gehörigen Fermentsystemen nicht bei der Teilungshemmung in Reaktion treten. Zur Hemmung von Phosphatasen<sup>84)</sup> sind gleichfalls 1000fache Dosen der mitosehemmenden notwendig; an der Adenosin-triphosphatase aus Leber und Muskel konnten wir keine Hemmung feststellen<sup>85)</sup>. Man kann die Arbeitshypothese aufstellen, daß die mitosehemmende Wirkung des Colchicins durch die Hemmung einer Reaktion zwischen Adenosin-triphosphorsäure und einem kontraktilen System von der Art des Actomyosins zustande kommt. Die Wirksamkeit des Colchicins hängt von der Menge an Adenosin-triphosphorsäure in der Zelle ab, derart, daß durch Senkung der Menge eine Verstärkung, durch Steigerung eine Abschwächung der mitosehemmenden Wirkung des Colchicins zustande kommt. Phlorrhizin, als Phosphatasen-Gift, vermindert die Menge an Adenosin-triphosphorsäure<sup>86)</sup> in der Zelle und dadurch kommt seine synergistische Wirkung zustande, die auch unterschwellige Dosen an Colchicin verstärkt. Vom Bulbocapnin ist ein Einfluß auf die Bildung energiereicher Phosphatbildungen bisher nicht bekannt. Es übt eine direkte Muskelwirkung (Katalapsieerzeugung) aus. Es wirkt also auf die actomyosin-artige Komponente, und durch diese Veränderung muß seine synergistische Wirkung zustande kommen. Unter diesem Gesichtspunkt, der Wirkung auf den Adenosin-triphosphorsäure-Haushalt einerseits, der auf das kontraktile System andererseits, lassen sich die bisher bekannten synergistischen Verbindungen, Phosphatasengifte, Muskelgifte, weiter ordnen. Diese Untersuchungen stützen weiterhin die Annahme des Angriffspunktes des Colchicins in einem der Muskelkontraktion verwandten Gebiet. Die Bedeutung der Höhe des Zellspiegels an Adenosin-triphosphorsäure für die Colchicin-Wirksamkeit konnte von uns unmittelbar demonstriert werden, da Adenosin-triphosphorsäure die Mitosehemmung einer allein stark wirksamen Colchicin-Dosis völlig aufhebt.

Nach unseren Befunden besteht die Colchicin-Wirkung in einer Störung der Spindelfunktion, während der Morphologe *Ludford*<sup>80)</sup> von einer Unterdrückung ihrer Bildung spricht. In einem kontraktilen System, in dem Form und Funktion in einer Einheit aufgehen, kann Störung der Funktion gleichbedeutend mit Störung der Form sein, so daß die Nachweisbarkeit der Spindel mit den histologischen Methoden verloren geht. Eine wirkliche Unterdrückung der Spindelbildung bewirken jedoch nur solche Faktoren, die auch die Blutgerinnung hemmen, wie Heparin<sup>87)</sup> und Calcium-Komplexbildner<sup>1)</sup>.

<sup>81)</sup> Plasma und Zelle. Jena 1907.

<sup>82)</sup> C. v., Acad. Sci. USSR 30, 644 [1941].

<sup>83)</sup> Chemistry of muscular contraction. New York 1947.

<sup>84)</sup> Schoetensack, Naturwiss. 35, 285 [1948].

<sup>85)</sup> H. Lettré u. W. Fritsch, Dissert. Göttingen 1950.

<sup>86)</sup> O. Meyerhof u. Wilson, Arch. Biochemistry 17, 153 [1948].

<sup>87)</sup> L. V. Heilbrunn, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 70, 179 [1949].

## G) Zur Chemie der Kern- und Zellteilung

Die vorstehenden Ausführungen zeigen, daß die durch die Hemmbarkeit durch Mitosegifte erschlossenen Zellbestandteile auch bei der unbeeinflussten Kern- und Zellteilung eine Rolle spielen. Die Synthese derjenigen Zellbestandteile, die vor einer Teilung in verdoppelter Form vorliegen müssen (also insbes. die Bausteine der Chromosomen), und der Mechanismus ihrer Auseinanderführung spielen die größte Rolle. In der Unterschrift zu Bild 2 sind den morphologischen Zustandsbildern der Zellteilung die dem jeweiligen Zeitpunkt entsprechenden biochemischen Reaktionen gegenübergestellt. In der sog. Ruhezelle herrscht der Plasmastoffwechsel des oxydativen Abbaus der Kohlenhydrate vor, daneben finden Protein-Synthesen im Plasma und Kern statt. In einer teilungsbereiten Zelle ist eine Vermehrung der Synthese von Desoxy-ribonucleotiden anzunehmen, die in der Prophase als Thyminucleinsäure bei der Abscheidung der Chromosomen sichtbar werden. Die Abscheidung der Nucleinsäuren des Kerns ist die Voraussetzung für die Auflösung der Kernmembran, die im Ruhekern den Charakter eines Nucleoproteids hat und als solches nicht auflösbar ist. Unterbleibt die Abscheidung der Nucleinsäuren, so ist die Kernmembran nicht auflösbar und eine Kernteilung tritt dann nur durch direkte Kerndurchschnürung, amitotisch ein. Die Spindelbildung wird als ein intracellulärer Gerinnungsprozeß angesehen, der mit dem der Blutgerinnung Verwandtschaft hat. Die Anheftung der Spindel an die Chromosomen ist möglicherweise eine Verknüpfung über Disulfid-Bindungen. Das Auseinanderwandern der Chromosomen kommt durch die Kontraktion der Spindel zustande, die Ein- und Durchschnürung der Zelle durch Kontraktilität des Zellplasmas und der Zelloberfläche.

Die Verknüpfung des glykolytischen und oxydativen Kohlenhydrat-Abbaus mit den Reaktionen der Zellteilung ist an zwei wesentlichen Punkten möglich. Die Synthese der Thyminucleinsäure erfordert eine vermehrte Synthese von 2-Desoxyribose; nimmt man deren Bildung aus Ribose an, so wäre für deren Umwandlung ein Reduktionsprozeß notwendig, der bei glykolytischer Stoffwechsellaage begünstigt wäre. Wachstum, definiert als Produktion von Thyminucleinsäure, würde Glykose zur Voraussetzung haben und der Befund von *Warburg*<sup>88)</sup>: „Kein Wachstum ohne Glykose“ würde dadurch chemisch verständlich. Die für die Kontraktion der Spindel notwendige Adenosin-triphosphorsäure verdankt ihren Ursprung dem glykolytischen und oxydativen Kohlenhydrat-Abbau, und zwar wird bei dem letzteren mehr als bei der Glykolyse gebildet<sup>89)</sup>. Wir haben gefunden<sup>90)</sup>, daß bei Ruhezellen durch Ausschaltung der Atmung bei Erhalt der Glykolyse starke Plasmabewegungen auftreten, wie wir sie sonst nur bei der Zellteilung kennen. Hieraus ist der Schluß zu ziehen, daß die sog. Ruhe der Zelloberfläche durch eine Dauerkontraktion zustande kommt, wenn die Atmung einen genügend hohen Spiegel an Adenosin-triphosphorsäure aufrecht erhält. Durch Erniedrigung des Zellspiegels an Adenosin-triphosphorsäure tritt an die Stelle der Dauerkontraktion eine periodische Kontraktion, die durch den glykolytischen Stoffwechsel, bzw. durch die von ihm herrührende Adenosin-triphosphorsäure aufrecht erhalten wird. Die Atmung bedingt die Ruhe und die Aufrechterhaltung der Form der Zelle, die Glykolyse die Bewegung des Plasmas. Obschon die Atmung Zellteilung nicht ausschließt, begünstigt die Glykolyse die Zellteilung.

Andererseits muß für die Spindelkontraktion Adenosin-triphosphorsäure zur Verfügung stehen, und ihre Menge bedingt die Zeitdauer, welche für die Auseinanderführung der Chromosomen notwendig ist. Bei gleichem Kohlenhydrat-Umsatz ist diese Menge bei glykolytischem Stoffwechsel geringer als bei Oxydation. Bei Tumoren steht einer kurzen Prophase eine lange Metaphase gegenüber, während normale Zellen eine lange Prophase und eine kurze Metaphase haben. Entsprechend ihrem überwiegend glykolytischen Stoffwechsel würde die relativ lange Metaphase der Tumorzelle durch den relativ niedrigen Spiegel an Adenosin-triphosphorsäure, im Gegensatz zur überwiegend oxydativ arbeitenden normalen Zelle, erklärbar sein.

<sup>88)</sup> Über den Stoffwechsel d. Tumoren, Berlin, Springer 1926.

<sup>89)</sup> F. Lynen, Naturwiss. 30, 398 [1942]; Liebigs Ann. Chem. 546, 120 [1941]; 573, 60 [1951].

<sup>90)</sup> H. Lettré, M. Albrecht u. R. Lettré, Naturwiss. 38, [1951] i. Druck.

## H) Geordnetes und ungeordnetes Wachstum

Die Eigenschaften der Zelle selbst und das sie umgebende Milieu bedingen das Verhalten der Zelle. Beim geordneten Wachstum liegen Regulationen in der normalen Zelle selbst vor und Regulationen von seiten des umgebenden Milieus, d. h. des gesamten Organismus. Die Regulationen in der normalen Zelle selbst bestehen in der kontrollierten Produktion der zur Selbstvermehrung befähigten Zellbestandteile; die Regulationen von seiten des Organismus in der teilungshemmenden Wirkung nervöser und hormonaler Faktoren. Der Stoffwechsel der normalen Zelle ist überwiegend oxydativ, der glykolytische Stoffwechsel durch die Atmung unterdrückbar; bei der oben diskutierten möglichen Beziehung zwischen Glykolyse und Produktion von Thymonucleinsäure würde hierin eine wichtige Wachstumsregulation liegen. Bei der malignen Zelle mit dem überwiegend glykolytischen Stoffwechsel würde diese Wachstumsregulation wegfallen und eine unkontrollierte Produktion von Thymonucleinsäure und damit ungehemmtes Wachstum stattfinden. Darüber hinaus muß aber die Regulation von seiten des Organismus unwirksam werden, indem die abgewandelte maligne Zelle sich den teilungshemmenden Wirkungen nervöser und hormonaler Faktoren entzieht.

Die maligne Zelle hat gegenüber der normalen Zelle eine solche Abwandlung erfahren, sei diese adaptiver<sup>91)</sup> oder mutativer<sup>92)</sup> Natur, daß sie einmal eine vermehrte Stoffproduktion durchführen kann und andererseits das daraus bedingte Wachstum trotz der für die normalen Zellen vorhandenen Regulationen durchführen kann. Durch Herausnahme aus dem Regulationsystem des Organismus und Einbringen in das von den Regulationen freie System der Gewebekultur kann man auch Zellen des erwachsenen Organismus zu ständigem, quasi ungehemmten Wachstum veranlassen. Im Organismus befinden sich diese Zellen in einem für den Zustand der Teilungsruhe adäquaten Milieu. Die Tumorzelle wandelt sich selbst so ab, daß dieses Milieu ihrem Wachstum adäquat wird. Unser Bestreben geht dahin, durch eine Abwandlung des Milieus durch Zusatz von Mitosegiften wieder eine Teilungshemmung bei der Tumorzelle zu erreichen. In neuerer Zeit werden zur Tumorbekämpfung in größerem Umfang Hormone verwendet (Follikelhormon bei Prostatacarcinom, Testikelhormon bei Mammacarci-

<sup>91)</sup> H. Lettré, Z. Krebsforsch. 56, 5 [1948].

<sup>92)</sup> K. H. Bauer: Das Krebsproblem. Springer 1949.

nom, Cortison bei Lymphosarkom). Bei einigen Tumorarten ist also der Nachweis erbracht, daß ihre Wachstumsfähigkeit von der Höhe eines Hormonspiegels abhängig ist. In der selektiven Wirkung auf bestimmte Tumorarten spiegelt sich nur die Selektivität der Hormone wieder.

## I) Schlußbemerkung

Die Entdeckung zellteilungshemmender Faktoren geht auf den belgischen Pathologen A. P. Dustin<sup>93)</sup> zurück. Seine Beobachtungen haben Anlaß zu einer Fülle von biologischen Arbeiten gegeben, deren Zahl sich noch vermehrte, als die polyploidisierende Wirkung des Colchicins auf Pflanzen entdeckt wurde<sup>94)</sup>. Eigsti und Dustin jr.<sup>95)</sup> haben eine Zusammenstellung der Arbeiten bis 1947 gegeben, die etwa 1300 Literaturzitate umfaßt. In neuester Zeit berichtet Häggqvist<sup>96)</sup>, daß es ihm gelungen sei, mit Hilfe von Colchicin auch Säugetiere polyploiden Charakters zu erhalten. Aber nicht nur die Biologie, auch die Chemie hat durch die Befunde Dustins Impulse erhalten, denn es ist kein Zweifel, daß die Chemie des Colchicins nicht weiter ausgearbeitet worden wäre, wenn die Zellwirkungen nicht das Interesse an diesem Körper erweckt hätten. In unseren eigenen Arbeiten haben wir bisher zum Studium der Abhängigkeit der Wirkung von der Konstitution, zur Klärung der Zellspezifität, der Frage der Wirkungssteigerung über 1000 Verbindungen untersucht, von denen ein großer Teil in eigenen Arbeiten und denen meiner Mitarbeiter neu hergestellt wurde. Diese Untersuchungen erforderten seit 1939 zur Austestung 350000 Gewebekulturen von Fibroblasten. Die Untersuchung der Wirkung chemischer Faktoren auf die sich teilende Zelle diente zugleich zur Analyse des Chemismus der Zelle. Die sich hierbei ergebenden Befunde bestimmten wieder die Art der zu synthetisierenden Verbindungen. So kommt es, daß dieses, dem Außenstehenden von der rein präparativen Chemie sehr weit entfernt scheinende Gebiet der Zellforschung, der Chemie eine Fülle von Problemen stellt, daß die Beantwortung einer Frage der Zellforschung oft von der Lösung eines präparativen Problems abhängig ist. So ist die Untersuchung der Mitosegifte ein Gebiet, an dem die Wechselwirkung von Chemie und Biologie besonders gut zu demonstrieren ist.

Eingeg. am 13. August 1951. [A 378]

<sup>93)</sup> Bull. Acad. Méd. Belg. 1933, 585; 1934, 487. Arch. exper. Zellforsch. 22, 395 [1939].

<sup>94)</sup> A. P. Dustin, L. Havas u. F. Lits, C. v. Assoc. Anat. 32, 170 [1937]. A. F. Blakeslee, C. v., Acad. Sci. Paris 205, 476 [1937].

<sup>95)</sup> Colchicine Bibliography Lloydia 10, 65 [1947].

<sup>96)</sup> G. Häggqvist u. A. Baue, Hereditas 36, 329 [1950].

# Insect-Repellents

Von Dr. G. E. UTZINGER, Organ. Chemische Anstalt der Universität Basel (Schweiz).

Insect-Repellents sind Mittel, die Insekten durch Geruch oder geschmackliche Wirkung davon abhalten sollen, sich auf der Haut niederzulassen und Blut zu saugen. Die im Handel verwendeten Repellents und die Anforderungen, die an derartige Produkte zu stellen sind, werden besprochen. Sodann werden Testmethoden, Handelsmischungen und Kleiderimprägnierung sowie die Synthese einiger wichtiger Insect-Repellents behandelt.

## Der Begriff „Insect-Repellents“

Der Ausdruck „Insect-Repellents“ ist der englischen Sprache entnommen, da sich eine einheitliche deutsche Bezeichnung bis jetzt nicht durchzusetzen vermochte. Er umfaßt diejenigen Substanzen und Substanzgemische, welche Insekten davon abhalten, sich auf der Haut niederzulassen und Blut zu saugen. Im Register der Chemical Abstracts finden sich die einschlägigen Arbeiten neuerdings unter dem Stichwort Insectifuges.

Solche Substanzen sind in den Tropen schon lange in Gebrauch. Die Bearbeitung des Problems wurde aber erst während des zweiten Weltkrieges zu einem dringenden Bedürfnis, als es galt, die Soldaten in den pazifischen tropischen Kampfgebieten vor infizierenden Insekten zu schützen.

Die Substanzen, welche vorher in gefährdeten Gegenden zum Schutze gegen die Insektenplage gebraucht wurden, waren hauptsächlich ätherische Öle, die gebräuchlichsten darunter: Citronellöl, Zimtöl, Pfefferminzöl, Campher, Nelkenöl und Flohkraut, an synthetischen: Terpinylacetat, Salicylsäureester, Äthylenglykol<sup>1)</sup>. Mit ihnen wurde mehr ein qualitativer subjektiver Schutz

<sup>1)</sup> J. H. Draize, J. Pharm. exptl. Therap. 93, 26 [1948].

vor der lästigen Zudringlichkeit der Insekten, als eine prophylaktische Behinderung am Stechen erreicht, da diese Mittel zu wenig wirksam sind, um einen absoluten Schutz gegen die Insekten zu gewähren.

Über die Wirkungsweise dieser Substanzen war man von Anbeginn der Untersuchungen nur auf Vermutungen angewiesen, welche in Anbetracht der Vielfalt von Insekten bis jetzt nicht zu einer einheitlichen Auffassung führten. Es muß deshalb schon als eine praktisch wertvolle Erkenntnis gewertet werden, wenn sich empirisch herausstellte, daß die Repellent-Wirkung summarisch als unspezifisch bezeichnet werden darf<sup>2)</sup>, obschon bei jedem eine gegenüber verschiedenen Insektenarten differenzierte Wirkung leicht festgestellt werden konnte. Es bleibt aber offen, ob diese Differenzierung auf die Mitwirkung anziehender Stoffe (attractants) auf der Haut, welche sehr spezifisch wirken, zurückzuführen ist.

Das erstrebenswerte Ziel, eine Substanz (oder ein Substanzgemisch) zu finden, welche einen 100proz. Schutz vor Insektenstichen über mehrere Stunden gewährt und zugleich die unten

<sup>2)</sup> V. G. Dethier: Chemical Insect Attractants and Repellents. The Blakiston Company 1947, S. 201.