

The partial conformations of cyclohexane are as follows: chair form ($+60^\circ, -60^\circ$)₃, twist or skewed form¹² (XVI) ($+30^\circ, +30^\circ, -60^\circ, +30^\circ, +30^\circ, -60^\circ$) and the boat form ($+60^\circ, -60^\circ, 0^\circ$)₂.

One of the two conformations of cyclononylamine hydrobromide, as determined by X-rays (BRYAN and DUNITZ¹³) can be described as follows, starting with the torsion angle for the C-1, C-2 bond: $-73^\circ, -65^\circ, +67^\circ, +48^\circ, -94^\circ, +86^\circ, -104^\circ, +43^\circ, +84^\circ$. The stable conformation of cyclodecane (as found in 1,6-trans-diaminocyclodecane dihydrochloride; HUBER-BUSER and DUNITZ¹⁴) can be easily memorized as $-sc, -sc, +ap, -sc, -sc, +sc, +sc, -ap, +sc, +sc, +sc$. The enantiomeric conformations of cyclododecane (DUNITZ and SHEARER¹⁵) are $(-sc, -sc, +ap)_4$, and $(+sc, +sc, -ap)_4$.

It may be noted that torsion angles of partial conformations related by a pure rotation or screw axis have

the same sign, whereas those related by a centre of symmetry or a mirror plane have opposite signs.

Zusammenfassung

Es werden Konventionen vorgeschlagen, welche erlauben, die Lage von zwei Atomen oder Gruppen A B an zwei mit einfacher Bindung verbundenen Atomen X Y durch die Angabe des Torsionswinkels τ eindeutig zu bezeichnen. Durch Kombination dieser Konventionen mit den früher vorgeschlagenen Rangordnungsregeln⁵ wurden eindeutige Bezeichnungen für partielle Konformationen (Konstellationen) abgeleitet.

¹² P. HAZEBROEK and L. J. OOSTERHOFF, Disc. Faraday Soc. 10, 87 (1951). — R. E. REEVES, Ann. Rev. Biochem. 27, 17 (1958). — K. E. HOWLETT, J. chem. Soc. 1957, 4353. — N. L. ALLINGER, J. Amer. chem. Soc. 81, 5727 (1959). — R. D. STOLOW, J. Amer. chem. Soc. 81, 5806 (1959).

¹³ R. BRYAN and J. D. DUNITZ, Helv. chim. Acta 43, 3 (1960).

¹⁴ E. HUBER-BUSER and J. D. DUNITZ, Helv. chim. Acta 43, 760 (1960).

¹⁵ J. D. DUNITZ and H. M. M. SHEARER, Helv. chim. Acta 43, 18 (1960).

Chemische Konstitution und mutagene Wirkung. Klassifizierungsversuch chemischer Mutagene

Von G. RÖHRBORN *

«Wissenschaftsgebiete, die sich in sehr rascher und intensiver Entwicklung befinden, lassen sich schwer zusammenfassen. Das gilt besonders für die experimentelle Mutationsforschung...». Diese Worte prägte TIMOFÉEFF-RESSOVSKY¹ bereits 1937, also mehrere Jahre bevor die ersten klar wirksamen chemischen Mutagene gefunden wurden^{2,3,4}. Seither sind von vielen Forschern an den verschiedensten Objekten zahlreiche Verbindungen mit signifikanter mutagener Wirkung erprobt und beschrieben worden. Es ist deshalb im Rahmen der vorliegenden Arbeit unmöglich, alle mutagenen Chemikalien abzuhandeln. Ausgehend von einem Vorschlag LEDERBERGS⁵, die chemischen Mutagene in drei Gruppen, nämlich die alkylierenden Agenzen, die Peroxyde und eine gemischte Gruppe zu unterteilen, soll vielmehr versucht werden, die chemischen Mutagene unter dem Gesichtspunkt gemeinsamer Beziehungen in Konstitution und Wirkungsweise zu ordnen und die wichtigsten Vertreter jeder Gruppe zu erörtern. Zu diesem Zweck wurden aus der sogenannten gemischten Gruppe mehrere neue Gruppen gebildet und als gleichberechtigt neben die alkylierenden Agenzen und Peroxyde gestellt. Soweit dies aus klassifikatorischen Gründen nötig erschien, wurden innerhalb der einzelnen Gruppen Untergruppen eng verwandter Verbindungen gebildet.

A. Alkylierende Agenzen

Biologisch wirksame alkylierende Agenzen sind hochreaktive Verbindungen, die auf andere Moleküle oder Atome einen Alkyrest übertragen können. In diese, bei weitem umfangreichste und biochemisch bestuntersuchte Gruppe gehören die stärksten chemischen Mutagene. Ihre Mutagenität wurde an Metazoen, höheren Pflanzen und Mikroorganismen übereinstimmend nachgewiesen. Eine Sonderstellung innerhalb dieser Gruppe nehmen die sogenannten *Radiomimetika* ein; sie sollen deshalb zuerst behandelt werden.

Der Begriff radiomimetisch hat seit seiner Prägung durch DUSTIN⁶ mancherlei Wandlungen durchgemacht und wird heute oft unterschiedlich gebraucht. Wir wollen nach KOLLER⁷ nur solche Stoffe als Radiomimetika bezeichnen, die mit ionisierenden Strahlen folgende Ef-

* Institut für Genetik der Freien Universität Berlin, Berlin-Dahlem.

¹ N. W. TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, *Mutationsforschung in der Vererbungslehre* (Steinkopff, Dresden und Leipzig 1937).

² C. AUERBACH, Proc. Roy. Soc. Edinburgh B 62, 211 (1946).

³ F. OEHLKERS, Z. Vererbungslehre 81, 313 (1943).

⁴ I. A. RAPORT, Dok. Akad. Nauk. USSR 10, 12 (1946).

⁵ L. LEDERBERG, Bacter. Rev. 21, 133 (1957).

⁶ P. DUSTIN, Nature 159, 794 (1947).

⁷ P. KOLLER, Progr. Biophys. 4, 195 (1954).

fekte gemeinsam haben: 1. Erzeugung von Chromosomenbrüchen und Mutationen, 2. zytostatische Wirkung, 3. cancerogene Wirkung und 4. Depolymerisation von Nukleinsäuren *in vitro*. Nach BACQ und ALEXANDER⁸ gilt dies für viele S-Loste, N-Loste, Epoxyde, Äthylenimine und Methylsulfonsäureester. Einen Eindruck von der Mutagenität dieser Stoffe vermittelt Tabelle I.

Bei der Betrachtung von Tabelle I ergeben sich drei Fragen: 1) Ist das Vorhandensein der jeweiligen reaktiven Gruppen in den verschiedenen Stoffklassen radiomimetischer Verbindungen zur Mutationsauslösung erforderlich? 2) Besteht eine Korrelation zwischen der Stärke der Mutagenität und der Anzahl reaktiver Gruppen? 3) Welchen Einfluss hat der Grundkörper auf die Mutationsauslösung?

Zu 2): Diese Frage kann zur Zeit noch nicht eindeutig beantwortet werden. Aus zytostatischen Experimenten ist zwar bekannt, dass polyfunktionelle Radiomimetika wesentlich stärker tumorhemmend wirken als entsprechende monofunktionelle Verbindungen, und die bereits erwähnten Analogien innerhalb der Gruppe der Radiomimetika legen es nahe, diese Eigenschaft ebenfalls bezüglich der Mutagenität dieser Stoffe anzunehmen. Auch lassen manche Mutagenitätsuntersuchungen solche Beziehungen vermuten¹⁷, beweisende mutagenetische Experimente stehen jedoch noch aus. STEVENS und MYLROIE¹⁸ fanden bei *Neurospora* sogar, dass gewisse monofunktionelle S-Loste stärker mutagen wirken als polyfunktionelle. Ferner berichten mehrere Autoren (vgl. ¹⁴) über relativ stark mutagene monofunktionelle Radiomimetika.

Tab. I. Radiomimetische Mutagene

Verbindungstyp	reaktive Gruppe	Beispiel	Mutagenität ^a	Autor
a) S-Loste	$-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$		etwa 9%	AUERBACH und ROBSON ⁹
b) N-Loste	$-\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$		etwa 6%	AUERBACH und ROBSON ¹⁰
c) Epoxyde	$-\text{CH}-\text{CH}_2$		etwa 10%	BIRD ¹¹
d) Äthylenimine	$-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$		etwa 8%	LÜERS ¹²
e) Methylsulfonsäureester	$-(\text{CH}_2)_n-\text{OSO}_2\text{CH}_3$		etwa 6%	RÖHRBORN ¹³

^a bezogen auf den Prozentsatz rezessiv-geschlechtsgebundener Letalmutationen bei *Drosophila melanogaster*. Die spontane Mutationsrate des X-Chromosoms dieser Spezies beträgt etwa 0.1%. Die Bezeichnungen der einzelnen Beispiele sind: a = Bis-(β-chloräthyl)sulfid; b = Tris-(β-chloräthyl)amin; c = Diepoxybutan; d = Triäthylenmelamin und e = 1,4-Dimethylsulfonyloxy-1,4-dimethylbutan.

Zu 1): In eigenen vergleichenden Untersuchungen an *Drosophila melanogaster*¹⁴ zeigte es sich, dass 1,4-Dimethylsulfonyloxybutan (Myleran), der Dimethylsulfonsäureester des 1,4-Butandiols mutagen wirkt, 1,4-Butandiol selbst aber nicht. Ferner konnte nachgewiesen werden^{15,16}, dass Melamin, der Grundkörper des TEM keine Mutationen induziert. Sowohl 1,4-Butandiol als auch Melamin besitzen nicht die in Tabelle I aufgeführten reaktiven Gruppen ihrer mutagenen Derivate. Beides ist ein Hinweis dafür, dass in diesen Stoffklassen die jeweilige reaktive Gruppierung für die Induktion von Mutationen erforderlich ist.

⁸ Z. M. BACQ und P. ALEXANDER, *Grundlagen der Strahlenbiologie* (Thieme, Stuttgart 1958).

⁹ C. AUERBACH und J. M. ROBSON, Proc. Roy. Soc. Edinburgh B 62, 271 (1947).

¹⁰ C. AUERBACH und J. M. ROBSON, Proc. Roy. Soc. Edinburgh B 62, 284 (1947).

¹¹ M. J. BIRD, J. Genet. 50, 480 (1952).

¹² H. LÜERS, Arch. Geschwulstforsch. 6, 77 (1953).

¹³ G. RÖHRBORN, Z. Vererbungslehre 90, 457 (1959).

¹⁴ G. RÖHRBORN, Z. Vererbungslehre 90, 116 (1959).

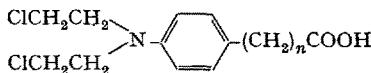
¹⁵ G. RÖHRBORN, Dros. Inf. Serv. 33, 156 (1959).

¹⁶ G. RÖHRBORN, *Chemische Konstitution und mutagene Wirkung. II. Triazinderivate* (in Vorbereitung).

¹⁷ O. G. FAHMY und M. J. FAHMY, J. Genet. 54, 146 (1956).

¹⁸ C. S. STEVENS und A. MYLROIE, Nature 166, 1019 (1950).

Zu 3): Über den Einfluss des Grundkörpers auf die Mutationsrate bei gleicher Anzahl von reaktiven Gruppen berichten FAHMY und FAHMY¹⁷ beispielsweise, dass bei den Phenyl-Carboxylsäure-Losten des Typs



die mutagene Wirksamkeit mit der Länge der Seitenkette in para-Stellung zum Loststickstoff variiert. Die Mutagenität ist signifikant höher, wenn $n = 1$ oder 3 statt 2 oder 4 ist. Bei den Dimethylsulfonyoxyalkanen (bifunktionelle Verbindungen des in der Tabelle I unter e dargestellten Typs) soll nach den gleichen Autoren auch die Stellung der reaktiven Gruppen zueinander die Mutagenität beeinflussen; und zwar soll die trans-Form wirksamer sein als die cis-Form. Dies ist etwas verwunderlich, da gewöhnlich die trans-Form die energieärmere Form ist, doch könnten sterische Gründe dafür verantwortlich sein. Substituiert man 1,4-Dimethylsulfonyoxybutan, einen anderen Vertreter dieser Stoffklasse, zu 1,4-Dimethylsulfony-1,4-dimethylbutan, indem man dem Butan-Grundkörper in 1,4-Stellung je eine Methylgruppe hinzufügt, so verdreifacht sich nach eigenen Befunden die mutagene Wirksamkeit¹⁸. Schliesslich sei in diesem Zusammenhang noch an die Untersuchungen von SZYBALSKI¹⁹ erinnert, der bei Neurospora nachweisen konnte, dass mehrere polyfunktionelle N-Loste und Äthylenimine nicht mutagen wirken. Befunde von Ross²⁰ machen es wahrscheinlich, dass derartige Unterschiede in der biologischen Wirkung analoger Verbindungen mit der gleichen Anzahl reaktiver Gruppen auf eine durch den Restkörper induzierte unterschiedliche chemische Reaktivität zurückzuführen sind.

Fasst man die drei Punkte zusammen, so lässt sich mit einiger Sicherheit folgendes aussagen: Die Mutagenität der Radiomimetika hängt weitgehend vom Vorhandensein oder Nichtvorhandensein bestimmter reaktiver Gruppen ab. Der Grund- bzw. Restkörper eines Verbindungstyps kann die mutagene Wirksamkeit modifizieren.

Aus biochemischen Untersuchungen von Ross^{20, 21} geht hervor, dass Radiomimetika ihre biologische Wirkung durch eine Alkylierungsreaktion ausüben. Die Alkylierung erfolgt durch eine nukleophile Substitution erster oder/und zweiter Ordnung. Es ist möglich, dass solcher Verschiedenheiten im Substitutionsmechanismus zu Mutagenitätsunterschieden führen können¹⁹. Als gemeinsame Wirkformen radiomimetischer Verbindungen werden Carbenium-Ionen angenommen^{20, 21}, doch können einige Radiomimetika auch andere elektrophile Kryptoionen bilden. Solche elektronenarmen elektrophilen Ionen können mit allen elektronenreichen nukleophilen Zentren in biologischen Systemen reagieren. In Proteinen sind unter physiologischen Bedingungen die reaktivsten Zentren die Carboxyl- und Imidazolgruppen und in den Nukleinsäuren

die Phosphatgruppen sowie die aromatischen Aminogruppen von Guanin, Adenin und Cytosin²⁰. Zahlreiche Verbindungen mit grösserer Reaktivität gegenüber Amino- und SH-Gruppen als gegenüber Säuregruppen zeigen keine zytostatische Wirksamkeit. Die Nichtmutagenität starker SH-Gifte²² stimmt damit gut überein. Aus diesen und anderen Erwägungen vermutet Ross^{20, 21}, dass die radiomimetischen Substanzen ihre biologische Wirkung vor allem über eine Esterifizierung von Säuregruppen und zwar besonders über die der Phosphorsäuregruppen von Nukleinsäuren ausüben. Dies wird auch dadurch belegt, dass DNS viel schneller mit Radiomimetika reagiert als Proteine²³. Eine Reaktion von Radiomimetika mit Nukleinsäurephosphatgruppen führt zur Bildung instabiler Triester. Dadurch kann es zur Hydrolyse der Zucker-Phosphat-Bindung und infolgedessen zum Bruch der Nukleotidkette kommen. Ferner würde durch eine Veresterung der Nukleinsäurephosphatgruppen deren Fähigkeit reduziert, sich mit basischen Proteinen zu verknüpfen^{20, 21}. SCHOLTISSEK²⁴ wies nach, dass DNS nach Einwirkung von N-Lost und N-Oxyd-Lost nicht mehr mit den basischen Farbstoffen Methylgrün-Pyronin färbbar ist und führt dies auf eine Blockierung der sauren Gruppen der Nukleinsäure zurück.

Mit Phosphatgruppen der DNS können alle Radiomimetika reagieren. Bei Überschuss von DNS und starker Verdünnung der Radiomimetika, also unter Bedingungen, wie sie in der Zelle anzutreffen sind, soll diese Reaktion den Vorzug vor allen anderen Reaktionsmöglichkeiten besitzen^{25, 26}. Für die im Vergleich zu monofunktionellen Verbindungen verschiedentlich beobachtete stärkere radiomimetische Wirkung gleicher Dosen polyfunktioneller Radiomimetika macht ALEXANDER^{8, 23, 26} die gleichzeitige Reaktion eines Moleküls mit benachbarten Phosphatgruppen verantwortlich, wodurch ein grösserer Oberflächenbereich der DNS verändert würde, und es zur Ausbildung intra- und intermolekularer Querverbindungen kommen könnte. Viele weitere Arbeiten belegen eine chemische Wechselwirkung zwischen Radiometika und Nukleinsäuren *in vitro* und *in vivo* (vgl. 20, 21, 25-29). Eine chemische Reaktion zwischen Radiomimetika und der Substanz, die wir heute als genetisches Material ansehen, kann somit als erwiesen gelten.

¹⁸ W. SZYBALSKI, Ann. N.Y. Acad. Sci. 76, 475 (1958).

²⁰ W. C. J. ROSS, Ann. N.Y. Acad. Sci. 68, 669 (1958).

²¹ W. C. J. ROSS, Advanc. Cancer Res. 1, 397 (1953).

²² C. AUERBACH, Exper. 6, 17 (1950).

²³ P. ALEXANDER, Advanc. Cancer Res. 2, 1 (1954).

²⁴ C. SCHOLTISSEK, Z. Krebsforsch. 61, 578 (1957).

²⁵ U. FEINE, in H. R. SCHINZ, H. HOLTHUSEN, H. LANGENDORFF, B. RAJEWSKY und G. SCHUBERT, *Strahlenbiologie, Nuklearmedizin und Krebsforschung* (Thieme, Stuttgart 1959).

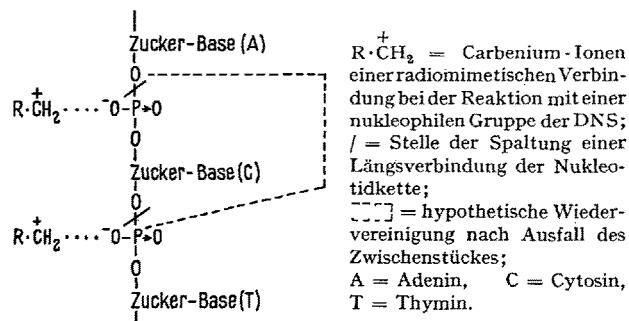
²⁶ P. ALEXANDER, Nature 169, 226 (1952).

²⁷ K. A. STACEY, M. COBB, S. F. COUSENS und P. ALEXANDER, Ann. N.Y. Acad. Sci. 68, 682 (1958).

²⁸ J. A. V. BUTLER, Radiat. Res. Suppl. 1, 403 (1959).

²⁹ A. LOVELESS und J. C. STOCK, Proc. Roy. Soc. Edinburgh, B 160, 423 (1959).

Allgemein wird angenommen, dass die genetische Information durch die Reihenfolge bestimmter Purin- und Pyrimidinbasen im Nukleinsäuremolekül festgelegt wird (Einzelheiten siehe zum Beispiel^{30, 31}), und eine Änderung der ursprünglichen Basensequenz Mutationen verursacht. Derartige Veränderungen könnten auch durch die eine oder die andere der beschriebenen Reaktionen radiomimetischer Verbindungen mit DNS hervorgerufen werden. Besonders Brüche der Zucker-Phosphat-Bindung nach Triesterifizierung von Phosphatgruppen^{20, 28} könnten unseres Erachtens die Basensequenz ändern und damit (Gen-)Mutationen auslösen (Abb.).



Veränderung der DNS-Basensequenz infolge Einwirkung alkylierender Radiomimetika

Bei einer Doppel-Helix gemäss dem Watson-Crick-Modell der DNS-Struktur stösst die Neuvereinigung der Nukleotidkette nach Fortfall eines Zwischenstückes auf sterische Schwierigkeiten, da die unverzerrt gebliebene Nukleotidkette die Teilstücke ihres Partners vermittels der Basen-Wasserstoff-Brücken in der ursprünglichen Lage hält. Nach der Zerlegung in Einzelfäden oder bei Reaktion im entspiralisierten Zustand fallen diese Hindernisse jedoch fort. Berücksichtigt man noch, dass die identische Reduplikation der DNS wahrscheinlich mit einer Sprengung der Wasserstoff-Brücken und einer Entspiralisierung verbunden ist (vgl. ^{31, 32}), und dass Radiomimetika vor allem auf die DNS-Synthese einwirken (vgl. ^{21, 28, 33}), so gewinnt die vorgetragene Hypothese an Wahrscheinlichkeit.

Als wichtige Vertreter der Gruppe alkylierende Agenzien sind noch die *Dialkylsulfate* Dimethylsulfat, Diäthylsulfat und Dipropylsulfat zu nennen. Diese Verbindungen werden meist nicht zu den oben beschriebenen Radiomimetika *sensu stricto* gezählt. Vor allem dürfte ihre chemotherapeutisch-zytostatische Bedeutungslosigkeit infolge der grossen Gifigkeit ihrer reaktivsten Derivate dafür verantwortlich sein. Besonders die starke Toxizität von Dimethylsulfat erschwert auch Mutagenitätsexperimente^{34, 35}. Untersuchungen von KÖLMARK³⁴ lassen erkennen, dass diese Verbindungen in der Mutationsauslösung wahrscheinlich einem ähnlichen Reaktionsmechanismus folgen wie er für die

Radiometika s. s. geschildert wurde. Der Einfluss des Grundkörpers auf die Mutationsrate zeichnet sich auch in dieser Stoffklasse deutlich ab. Während Dimethylsulfat in Experimenten mit *Neurospora* stark mutagen wirkte, konnten durch Dibutylsulfat überhaupt keine Mutationen induziert werden³⁴.

B. Basische Farbstoffe

Stoffe, bei denen sich das Farbsystem im Kation befindet, werden nach KLAGES³⁶ «basische» Farbstoffe genannt. Diese kationoiden bzw. elektrophilen Substanzen sind keine hochreaktiven Verbindungen wie die Radiomimetika, können jedoch ähnlich wie diese mit sauren Gruppen in Nukleinsäure reagieren^{24, 37, 38}. Bei guten Resorptions- und Transportverhältnissen im Organismus wäre es daher denkbar, dass basische Farbstoffe in die Keimzellen gelangen und dort Mutationen auslösen können. Tatsächlich wurde auch für einige Vertreter dieser Stoffklasse wie beispielsweise Proflavin³⁸, Pyronin und Acridinorange eine Mutagenität nachgewiesen. In der Pyroninreihe stieg die mutagene Wirksamkeit mit der Affinität der verschiedenen Pyroninderivate gegenüber Nukleinsäure vom Dimethyläther-derivat über das Tetramethyläther-derivat zum Tetraäthyläther-derivat an³⁹. Allgemein ist die Mutagenität der wenigen wirksamen Vertreter dieser Stoffklasse wesentlich geringer als in der Gruppe alkylierende Agenzien. Eine Prüfung basischer Farbstoffe auf cytostatische Wirkung erfolgte unseres Wissens bisher nicht.

C. Peroxyde

Die mutagene Wirkung von Hydroperoxyd und einigen organischen Peroxyden wurde zuerst von Wyss *et al.*^{40, 41} sowie von DICKEY *et al.*⁴² an Bakterien bzw. *Neurospora* aufgezeigt. Bei *Drosophila* konnten Mutationen nur mit organischen Peroxyden nachgewiesen werden; Hydroperoxyd-Applikation führte zu keiner Erhöhung der Mutationsrate⁴³, (LÜERS unver-

³⁰ C. B. ANFINSEN, *The Molecular Basis of Evolution* (Wiley, London 1959).

³¹ H. FRITZ-NIGGLI, *Strahlenbiologie* (Thieme, Stuttgart 1959).

³² H. NETTER, *Theoretische Biochemie* (Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959).

³³ A. LOVELESS und S. REVELL, *Nature* **164**, 938 (1949).

³⁴ G. KÖLMARK, C. R. Lab. Carlsberg, Ser. physiol. **26**, 205 (1956).

³⁵ I. A. RAPORT, Dok. Akad. Nauk. USSR **10**, 12 (1947).

³⁶ F. KLAGES, *Lehrbuch der organischen Chemie*, Bd. 1-3 (De Gruyter, Berlin 1952-1958).

³⁷ E. BOYLAND, *Pharmak. Rev.* **6**, 345 (1954).

³⁸ S. BRENNER, S. BENZER und L. BARNETT, *Nature* **182**, 983 (1958).

³⁹ A. M. CLARK, *Amer. Nat.* **87**, 295 (1953).

⁴⁰ O. WYSS, W. S. STONE und J. B. CLARK, *J. Bacteriol.* **54**, 767 (1947).

⁴¹ O. WYSS, J. B. CLARK, F. HAAS und W. S. STONE, *J. Bacteriol.* **56**, 51 (1948).

⁴² F. H. DICKEY, H. CLELAND und C. LOTZ, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **35**, 581 (1949).

⁴³ F. H. SOBELS und J. W. I. M. SIMONS, *Z. Vererbungslehre* **87**, 735 (1956).

öffentlicht). Auch bei *Paramecium* verliefen Mutationsversuche mit Hydroperoxyd negativ^{44,45}. Allgemein wirken Peroxyde schwächer mutagen als alkylierende Agenzien. Einen Eindruck von der Mutagenität einiger Peroxyde bei verschiedenen Testobjekten vermittelt Tabelle II.

Tab. II. Die Mutagenität von Peroxyden bei verschiedenen Objekten

Verbindung	Testobjekt	Be-fund	Autor
Hydroperoxyd	Bakterien	+	WYSS <i>et al.</i> ^{40,41}
Hydroperoxyd	<i>Neurospora</i>	+	JENSEN <i>et al.</i> ⁴⁶
Hydroperoxyd	<i>Drosophila</i>	-	LÜERS, unver-öffentlicht
Dihydroxydimethylperoxyd	<i>Drosophila</i>	+	SOBELS ⁴⁷
Cumenhydroperoxyd	<i>Drosophila</i>	-	SOBELS ⁴⁸
Disuccinylmono-peroxyd	<i>Drosophila</i>	-	SOBELS ⁴⁸
Tert. Butylhydroperoxyd und weitere organische Peroxyde	<i>Neurospora</i>	+	DICKEY <i>et al.</i> ⁴²
Tert. Butylhydroperoxyd	<i>Drosophila</i>	-	ALtenburg ⁴⁹
	Eier ♂♂	+	

Katalase ist ein Ferment, das Hydroperoxyd abbaut (Peroxydasen entsprechen in ihrer Wirkung auf organische Peroxyde der Katalase). Bei *Neurospora*⁴² und *Aspergillus*⁵⁰ wurde nachgewiesen, dass Katalasezusatz die mutagene Wirkung von Hydroperoxyd stoppt. Die negativen Mutationsversuche bei *Drosophila* sind möglicherweise auf deren zu hohe Katalaseaktivität zurückzuführen⁴⁷. Durch Enzymgifte wie Cyanide und Azide kann das Katalase-Enzym-System gehemmt werden. Die alleinige Verabreichung einzelner Enzymgifte an *Drosophila* erbrachte keinen Hinweis für mutagene Wirkung⁵¹. Die kombinierte Behandlung von *Drosophila* mit Kohlenmonoxyd und Aziden bzw. Cyaniden zeigte nach CLARK⁵² aber einen mutagenen Effekt. Ungeachtet der Hydroperoxydkonzentration steigert Vorbehandlung – und in geringerem Masse auch Nachbehandlung – mit Cyaniden und Aziden die H_2O_2 -induzierte Mutationsrate bei *Aspergillus*⁵⁰. Für Azide und Cyanide wurde ferner nachgewiesen, dass sie die strahleninduzierte Mutationsrate beträchtlich erhöhen können⁵¹. Dies deutet darauf hin, dass die genetische Wirkung ionisierender Strahlen zum Teil über Hydroperoxydbildung verläuft.

Als für die Mutationsauslösung bedeutungsvolle Wirkformen von Peroxyden kommen vor allem Radikale in Betracht. Dafür sprechen beispielsweise die bei *Neurospora* nachgewiesene Abhängigkeit der Mutagenität des Hydroperoxyd von den Lichtverhältnissen⁴⁸ und Untersuchungsbefunde von ALtenburg⁵³. In diesen Versuchen wurden Eier von *Drosophila* in einer quarzbedeckten Kammer mit tert. Butylhydroperoxyddämpfen – mit und ohne gleichzeitige UV-Be-

strahlung (254 m μ) – behandelt. In einer Versuchsreihe wurden die Eier vor dem UV-Licht abgeschirmt. Dadurch wirkte nur Peroxyddampf auf sie ein, der mit UV-Licht bestrahlt worden war. UV-Licht allein, Peroxyd allein und mit UV-Licht bestrahltes Peroxyd ergeben keine bis geringe Erhöhungen der spontanen Mutationsrate im zweiten Chromosom von *Drosophila*. UV-Licht kombiniert mit Peroxyd lieferte dagegen eine signifikante Steigerung der Mutationsrate auf 10,5%. Aus dem starken Zusammenwirken von UV-Licht und Peroxyd zieht ALtenburg den Schluss, dass dafür die Bildung von freien Peroxydradikalen innerhalb der Zelle verantwortlich ist, weil UV-Licht die Radikalbildung katalysiert. Diese starke mutagene Wirkung wird bei einer Radikalbildung ausserhalb der Zelle durch UV-Vorbehandlung des Peroxyddampfes nicht beobachtet; möglicherweise deshalb nicht, weil freie Radikale unbeständig sind und mit dieser Methode nicht in reaktiver Form an die genetische Substanz in den Eizellen gelangen können. Die verschiedentlich beobachteten Veränderungen genetischen Materials nur durch erhöhte Sauerstoffspannung widerlegen nicht die Annahme von Radikalen als Wirkformen von Peroxyden (vgl. ⁵⁴).

Für photochemisch aus Hydroperoxyd gebildete Radikale wiesen BUTLER und CONWAY⁵⁵ einen Abbau von DNS und einfacheren Modellsubstanzen nach. Die Autoren vermuten, dass die gebildeten Radikale (vor allem $\times OH$) mit Nukleinsäuremolekülen auf mehreren Wegen reagieren: 1) Bruch der Zucker-Phosphat-Bindung, 2) Oxydation des Zuckers, 3) Lösung der Bindung zwischen Zucker und Base und 4) Oxydation und Abbau der Basen. Hierin erwies sich der Purinring wesentlich resistenter gegen die Wirkung der Radikale als der Pyrimidinring.

Formaldehyd ist eines der genetisch meistuntersuchten chemischen Mutagene. Es ist zwar kein Peroxyd und findet in der Chemie auch als Alkylierungsmittel Verwendung, einige Charakteristika der Formaldehydwirkung lassen aber vermuten, dass es seine mutagene Wirkung über die Bildung von Peroxyden ausüben kann. Es erscheint uns deshalb angezeigt, Formaldehyd an dieser Stelle aufzuführen.

⁴⁴ R. F. KIMBALL, Ann. N. Y. Acad. Sci. 59, 698 (1955).

⁴⁵ R. F. KIMBALL, J. Z. HEARON und N. GAITHER, Radiat. Res. 3, 435 (1955).

⁴⁶ K. A. JENSEN, I. KIRK, G. KØLMARK und M. WESTERGAARD, Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. 16, 245 (1951).

⁴⁷ F. H. SOBELS, Nature 177, 979 (1956).

⁴⁸ F. H. SOBELS, Dros. Inf. Serv. 32, 159 (1958).

⁴⁹ L. S. ALtenburg, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 40, 1037 (1954).

⁵⁰ G. A. VAN ARKEL, Dissertation an der Universität Utrecht (1958).

⁵¹ F. H. SOBELS, Z. Vererbungslehre 86, 399 (1955).

⁵² A. M. CLARK, Nature 181, 500 (1958).

⁵³ L. S. ALtenburg, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 41, 624 (1955).

⁵⁴ L. EHRENBURG, Radiat. Res. Suppl. 1, 102 (1959).

⁵⁵ J. A. V. BUTLER und B. E. CONWAY, Proc. Roy. Soc. Lond. B 141, 562 (1953).

Erstmalig wies RAPOORT⁴ die mutagene Wirksamkeit von Formaldehyd bei *Drosophila* nach. Spätere Experimente am gleichen Objekt zeigten, dass ein mutagener Effekt nur erhalten werden konnte, wenn es dem Futter beigemischt wurde; direkte Behandlung mit Formaldehydgas erbrachte negative Resultate. Dies könnte vermuten lassen, dass freies Formaldehyd selbst keine Mutationen auszulösen vermag, sondern nur ein Reaktionsprodukt zwischen Formaldehyd und dem Futter. Eingehende Untersuchungen von AUERBACH^{56, 57} lassen jedoch erkennen, dass wahrscheinlich freies Formaldehyd doch mutagen wirkt und labile Verbindungen zwischen Formaldehyd und Aminosäuren im Futter als Träger des Aldehyds fungieren. Injektionsexperimente mit Formaldehyd an *Drosophila* bestätigen ebenfalls die mutagene Wirkung von freiem Formaldehyd^{43, 58}.

Formaldehyd steigert die strahleninduzierte Mutationsrate⁵⁹. Cyanidvorbehandlung erhöht die mutagene Wirkung von Formaldehyd^{43, 50, 60}. Dihydroxidimethylperoxyd, ein durch die Reaktion von Formaldehyd mit Hydroperoxyd gebildetes organisches Peroxyd, ist ein Mutagen. Ferner ähnelt das Brutmuster (Empfindlichkeit des Keimzellzyklus gegenüber Mutagenen) dieses Peroxyds dem des Formaldehyds⁵⁹. Man darf deshalb mit SOBELS⁵⁹ annehmen, dass wenigstens ein Teil der mutagenen Wirkung von Formaldehyd über Peroxydbildung verläuft. Die Untersuchungsbefunde anderer Autoren mit Formaldehyd-Hydroperoxyd-Mischungen an *Neurospora* stimmen damit überein^{42, 61}. Die grösse Wirkung von Formaldehyd-Hydroperoxyd-Mischungen könnte aber auch darauf beruhen, dass Hydroperoxyd Reaktionen katalysiert, die zur Bildung von freien Formaldehydradikalen führen^{46, 50}.

Möglicherweise kann Formaldehyd über ganz unterschiedliche Mechanismen Mutationen auslösen. Beispielsweise könnte die Applikationsart modifizierend wirken. Während die vorstehend geschilderten Mechanismen hauptsächlich aus Injektionsexperimenten an *Drosophila* geschlossen wurden, gelangte ALDERSON⁶² auf Grund von Fütterungsversuchen mit dem gleichen Objekt zu der Ansicht, dass Formaldehyd vor allem dadurch mutagen wirke, dass es mit 2 Molekülen des Nukleinsäurebausteins Adenylsäure unter Verknüpfung dieser Elemente reagiere und das Reaktionsprodukt in die DNS eingebaut würde. Damit würde Formaldehyd gewissermassen letztlich als Antimetabolit wirken und zu dieser Klasse chemischer Mutagene überleiten.

D. Antimetaboliten

Antimetaboliten sind Verbindungen, die durch Verdrängung natürlicher Stoffwechselprodukte den Ablauf biologischer Reaktionen stören können.

BURCHENAL⁶³ klassifiziert die Antimetaboliten in folgender Weise:

1. Verbindungen, die vermutlich auf die *de novo* Synthese von Purinen und Pyrimidinen wirken; a) Folsäureantagonisten (zum Beispiel A-Methopterin), b) Glutaminsäureantagonisten (zum Beispiel Azaserin).

2. Verbindungen, die wahrscheinlich die Inkorporierung von Purinen und Pyrimidinen in Nukleinsäuren beeinflussen; a) Purinantagonisten (zum Beispiel Azaguanin), b) Pyrimidinantagonisten (zum Beispiel Bromuracil).

3. Verbindungen, die wahrscheinlich als Aminosäureantagonisten wirken (zum Beispiel D,L-Ethionin).

4. Verbindungen mit fraglicher antimetabolischer Wirkung (zum Beispiel Urethan).

Die mutagene Wirkung von einigen Antimetaboliten konnte meist nur an höheren Pflanzen und Mikroorganismen nachgewiesen werden. In jüngster Zeit wurde auch bei *Drosophila* eine schwache Mutagenität für den Purinantagonisten Coffein aufgezeigt⁶⁴. Innerhalb der einzelnen Antimetabolitenklassen BURCHENALS liessen beispielsweise der Folsäureantagonist A-Methopterin, der Glutaminsäureantagonist Azaserin^{19, 65}, die Purinantagonisten 2,6-Diaminopurin⁶⁵, 8-Azaguanin, Theophyllin, verschiedene Coffeine⁶⁶, der Pyrimidinantagonist 5-Bromuracil⁶⁷ und der fragile Antimetabolit Urethan^{3, 68} eine meist schwache mutagene Wirksamkeit erkennen. Zahlreiche andere Antimetaboliten wirkten nicht mutagen. In der Gruppe 3 (Aminosäureantagonisten s.s.) erwiesen sich unseres Wissens bisher alle geprüften Derivate als nicht mutagen, sieht man davon ab, beispielsweise mutagene Glutaminsäureantagonisten (Gruppe 1b) in die Gruppe 3 einordnen zu wollen. Die zahlreichen Widersprüche zwischen den Ergebnissen der Mutagenitätsuntersuchungen verschiedener Autoren mit gleichen Antimetaboliten können im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht erörtert werden.

Für Purin- und Pyrimidinantagonisten wurde früher und wird jetzt wieder vielfach angenommen, dass sie als kompetitive Analoga fungieren, das heisst statt der natürlichen Metaboliten in Nukleinsäuren eingebaut werden und dadurch Mutationen auslösen. Dies ist

⁵⁶ C. AUERBACH, Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. 16, 199 (1951).

⁵⁷ C. AUERBACH, Z. Vererbungslehre 87, 627 (1956).

⁵⁸ C. AUERBACH, Amer. Nat. 86, 330 (1952).

⁵⁹ F. H. SOBELS, Exper. 12, 318 (1956).

⁶⁰ F. H. SOBELS, Z. Vererbungslehre 87, 743 (1956).

⁶¹ M. WESTERGAARD, Exper. 13, 224 (1957).

⁶² T. ALDERSON, Nature 187, 485 (1960).

⁶³ J. H. BURCHENAL, Curr. Res. Cancer Chemother. 4, 3 (1956).

⁶⁴ L. E. ANDREW, Amer. Nat. 93, 135 (1959).

⁶⁵ J. HEMMERLY und M. DEMEREK, Cancer Res. Suppl. 3, 69 (1955).

⁶⁶ A. NOVICK, Mutation, Brookhaven Symp. Biol. 8, 201 (1956).

⁶⁷ S. BENZER und E. FREESE, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 44, 112 (1958).

⁶⁸ Zu den Gründen, warum Urethan nicht in die Gruppe Radiomimetika eingeordnet werden kann, siehe BACQ und ALEXANDER⁸.

zwar durchaus denkbar, bedarf aber trotz zahlreicher – oft widersprechender – Untersuchungen noch einer eingehenden experimentellen Bestätigung.

In Untersuchungen von Novick⁶⁶ an Bakterien wirkten sowohl der natürliche Purinmetabolit Adenin als auch mehrere Purinantagonisten mutagen, sämtliche geprüften natürlichen und antagonistischen Pyrimidine aber nicht. (Ein zu grosses Angebot von Adenin in der Zelle könnte eventuell antagonistisch zu Guanin wirken.) Die Mutagenität von Adenin und den anderen Purinen kann bei Bakterien vor allem durch die Purinribonukleoside Adenosin, Guanosin und Inosin stark bis völlig unterdrückt werden. Purindesoxyribonukleoside wirken ähnlich, aber nicht so intensiv wie ihre Riboseanaloga. Auch die Häufigkeit spontaner Mutationen bei Bakterien kann durch diese antimutagenen Purinderivate herabgesetzt werden, wenn auch nicht im gleichen Masse. Dagegen bleibt die strahleninduzierte Mutationsrate davon unbeeinflusst. Dies kann als Hinweis dafür gelten, dass einerseits für einen Teil der spontanen Mutationen endogene Purinderivate verantwortlich sind, und andererseits Strahlen und Purine über unterschiedliche Mechanismen Mutationen auslösen⁶⁶.

FREESE⁶⁹ beobachtete unter anderem, dass Phagen-T4-Mutanten, die durch 2-Aminopurin und 5-Brom-desoxyuridin induziert worden waren, durch eben diese Basen auch wieder zu Rückmutationen angeregt werden können. Im Gegensatz dazu lösen diese beiden Stoffe keine Rückmutationen bei proflavininduzierten und spontanen Mutanten aus. FREESE schloss daraus, dass es zwei grundsätzlich verschiedene Wirkungen geben müsse, nämlich 1) einen mutagenen Effekt der durch Analoga der natürlichen Purin- und Pyrimidinbasen induziert wird und 2) einen mutagenen Effekt, der für Bildung und Rückbildung derjenigen Mutanten verantwortlich ist, die nicht durch diese Basenanaloga beeinflusst werden.

E. Sonstige Chemikalien

In diese Gruppe müssen vorläufig alle chemischen Stoffe gestellt werden, die zur Zeit noch nicht in grösseren Gruppen mit gleicher Konstitution und Wirkungsweise zusammengefasst werden können. Allerdings zeichnen sich bereits manche gemeinsame Beziehungen unter den Agenzien dieser Gruppe ab, die vielleicht schon in Kürze eine andere Klassifizierung ermöglichen werden. Hier sind beispielsweise mehrere mutagene gesättigte und ungesättigte Aldehyde zu nennen (vgl.^{37, 70}, von denen es noch unsicher ist, ob sie ihre mutagene Wirkung ähnlich dem Formaldehyd ausüben. Einige anorganische Verbindungen wie Mn^{++} - und Fe^{++} -Salze katalysieren bekanntlich die Radikalbildung (vgl.^{5, 8, 31, 37, 46}). Möglicherweise ist diese Eigenschaft für die Mutagenität solcher Salze^{71, 72} nicht ohne Bedeutung. Schliesslich ist für einige radioaktive Isotope neben ihrer physikalischen Wirkung durch Strahlung eine gemeinsame chemische Beeinflussung des Erbgutes durch Inkorporierung in Nukleinsäuren und Umwandlung der Isotope in die entsprechenden Zerfallsprodukte denkbar (vgl.⁷³).

Summary

Chemical mutagens were classified with regard to the relationship between their chemical constitution and their mutagenic activity. Within the single groups possible common modes of action were considered. For alkylating mutagens, both the significance of the reactive groups and of the basal compounds, and a possible mutation mechanism were discussed.

⁶⁹ E. FREESE, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 45, 622 (1959).

⁷⁰ F. D'AMATO und O. HOFFMANN-OSTENHOF, Advanc. Genet. 8, 1 (1956).

⁷¹ M. DEMEREK, G. BERTANI und J. FLINT, Amer. Nat. 85, 119 (1949).

⁷² M. DEMEREK, E. M. WITKIN, B. W. CATLIN, J. FLINT, W. L. BELSER, C. DISSOWAY, F. L. KENNEDY, N. C. MEYER und A. SCHWARZ, Ann. Rep. Departm. Genet., Carnegie Inst. Washington Year Book 49, 144 (1950).

⁷³ B. S. STRAUSS, Radiat. Res. 8, 234 (1958).