

oxidation-reduction system of a nucleotide co-enzyme group at the active site of the enzyme. If histidine and tryptophane side-chains are associated with the co-enzyme group at the active site (as may be the case in lactic-dehydrogenase²³) inhibition of the system might also occur with esterase inhibitors. It is particularly interesting to note, in this connection, that indole derivatives such as the drug bufotenine inhibit both monamine oxidase and chymotrypsin, while local anaesthetics of the procaine type combine central nervous effects with antagonism of acetyl choline at the neuromuscular junction²⁴.

Drugs in general are not highly specific agents. Their ability to interact with enzymes suggests that similar interactions with active sites of antibodies may be an important factor in drug therapy in relation to immunity. It is probably true to say that this is recognized in clinical practice today, where suggestive evidence of drug-antibody interaction is found in the role of cortisone and the salicylates in arthritis; in the mechanism of histamine release of drugs; and in the causal relationship which emerges between central nervous disturbances and allergic reactions.

The basic concept of the molecular complex (AB) in equilibrium with the interacting biological molecules A and B refers to molecules in the ground state. In some circumstances one may have to take account of interactions in the excited state. Suppose, for example, that a drug molecule A interacts with an excited enzyme or receptor molecule B^* , to give a complex $(AB)^*$. If interaction permits energy transfer within the complex, the drug molecule A may be raised to the excited state,

leaving the enzyme or receptor molecule in the ground state (B). The result is in effect a deactivation of the molecule B by the drug:



This idea is attractive since it could account for the phenomenon of desensitization of receptors by stimulant drugs and related effects in pharmacology²⁵.

In conclusion then, molecular interactions between enzymes, drugs and antibodies are well-established, and the biological significance of these interactions is becoming clearer. The physical nature of the interaction between biological molecules is still obscure. This is a problem which quantum chemistry applied to energy transfer between biological molecules may be able to solve within the next decade.

Zusammenfassung. Die biologische Tätigkeit von Enzymen, Antikörpern und Pharmaka auf molekularem Niveau wird in bezug auf umkehrbare Molekularwechselwirkungen beschrieben. Diese Prozesse scheinen charakteristische thermodynamische Parameter zu haben, öfters von deutlichen Strukturähnlichkeiten begleitet. Molekularwechselwirkungen, welche in angelegten Zuständen auftreten, können offenbar bedeutend sein.

²³ B. R. BAKER, in Ciba Foundation Symposium, *Enzymes and Drug Action* (Churchill, 1962), p. 404.

²⁴ H. B. HIGMAN and E. BARTELS, *Biochim. biophys. Acta* **54**, 543 (1962).

²⁵ W. D. M. PATON, *Proc. Roy. Soc.* **154**, 21 (1961 B).

Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Zur Biochemie autoxydabler, H_2O_2 -bildender Verbindungen

Vor einiger Zeit wurden von uns zusammen mit LEHMANN et al.¹ Untersuchungen über die Hemmung der «Morphogenese» durch α -Aminoketone durchgeführt. Einige dieser Aminoketone zeigten hierbei eine starke Hemmwirkung in einem Regenerationstest und führten bei lokaler Anwendung, wie STRÄULI² fand, zu Tumorregressionen.

Wir versuchten seinerzeit abzuklären, welches chemische Verhalten die Ursache der morphostatischen Wirkung dieser Verbindungsklasse ist. Es ergaben sich hierbei Anhaltspunkte dafür, dass nicht eine auf Grund der Strukturähnlichkeit zu vermutende Antimetabolitwirkung zu Aminosäuren für diese Wirkung verantwortlich ist, sondern dass vielmehr die biologische Aktivität dieser

Verbindungen mit ihrer Fähigkeit zur Autoxydation verbunden ist³. Es wurde festgestellt, dass die Hemmwirkung im Regenerationstest mit zunehmendem pH der wässrigen Lösung der Aminoketone anstieg³. In solchen schwach alkalischen Lösungen bildeten sich unter O_2 -Aufnahme nicht näher identifizierte Peroxide, aus welchen z. B. mit Katalase O_2 freigesetzt wurde.

¹ H. ERLENMEYER und F. E. LEHMANN, *Exper.* **12**, 472 (1949). – F. E. LEHMANN, A. BRETSCHER, H. KÜHNE, E. SORKIN, M. ERNE und H. ERLENMEYER, *Helv. chim. Acta* **33**, 1217 (1950).

² P. STRÄULI, *Oncologia* **12**, 143 (1959).

³ F. E. LEHMANN, R. WEBER, H. AEBI, J. BÄUMLER und H. ERLENMEYER, *Helv. physiol. Acta* **12**, 147 (1954).

Aus äusseren Gründen konnten unsere Arbeiten erst jetzt fortgesetzt werden, wobei wir insbesondere die Frage verfolgen, welche Rolle eine Bildung von H_2O_2 in solchen Reaktionsabläufen spielen könnte.

Andere Mitteilungen aus diesem Gebiet⁴ veranlassen uns, über unsere Ergebnisse in vorläufiger Form zu berichten. Wir stellen zunächst fest, dass bei der früher beschriebenen Autoxydation der Aminoketone tatsächlich H_2O_2 entsteht (siehe Figur).

Die Anfangsgeschwindigkeit der H_2O_2 -Entwicklung ist stark pH-abhängig und könnte die beobachtete pH-Abhängigkeit der biologischen Hemmwirkung ohne weiteres erklären. Das Ausmass der in einer bestimmten Zeit zu beobachtenden H_2O_2 -Freisetzung ist, wie wir feststellten, bei konstantem pH etwa von der zweiten Potenz der Aminoketon-Konzentration abhängig.

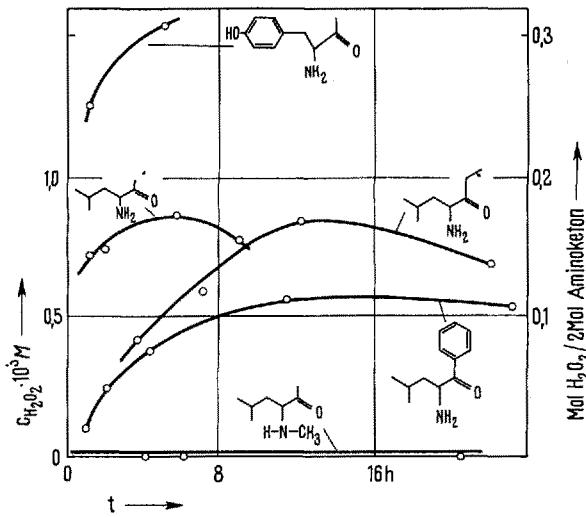
Gemäss Schema (1), welches den wahrscheinlichen Verlauf der zur H_2O_2 -Bildung führenden Reaktion wiedergibt, müssen sich vor der Radikale bzw. H_2O_2 erzeugenden Autoxydation zwei Moleküle Aminoketon kondensieren, wobei eine Art «vinylöger Hydrazine» (IIb) entstehen könnte. Dass die Wahrscheinlichkeit einer solchen Kondensation – wie unsere Versuche bestätigt haben – mit dem Quadrat der Konzentration des Wirkstoffs abnimmt,

erklärt auch, warum *in vivo* nur durch lokale Anwendung der Aminoketone in relativ hoher Konzentration eine carcinostatische Wirkung zu erzielen ist.

Ein weiterer Hinweis für die Berechtigung von Schema (1) ergibt sich aus der Tatsache, dass N-alkylierte α -Aminoketone⁵, bei welchen eine Autoxydation der Di-hydro-pyrazine (II) nicht möglich ist und die also kein H_2O_2 bilden, sich als biologisch inaktiv erwiesen haben⁶.

Der grössere Zusammenhang, in den diese Versuche gestellt werden müssen, ergibt sich aus der Feststellung, dass gewisse carcinostatische Wirkungen sowohl mit ionisierenden Strahlen, deren Wirkung auf Krebszellen nach WARBURG⁷ auf eine Erzeugung von H_2O_2 zurückzuführen ist, als auch mit H_2O_2 -erzeugenden chemischen Verbindungen – wie Di-hydroxymethyl-peroxid⁸, Äthylenimino-benzochinonen⁹, Aminoketonen und nach neueren Be-funden Methylhydrazinen⁴ – erzielt werden können. Anzufügen ist eine dritte therapeutische Möglichkeit mit bestimmten anaeroben Bakterien¹⁰, deren Stoffwechsel, wie Versuche von KAYSER¹¹ gezeigt haben, im Kontakt mit sauerstoffhaltigen Medien ebenfalls zur Entstehung von H_2O_2 führt.

Von grossem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Feststellung, dass radikalische Reaktionen von H_2O_2 mit chemischen und biologischen Systemen durch Metall-Ionen-Komplexe stark beeinflusst werden^{12–15}. Diese Be-



Bildung von H_2O_2 bei der Autoxydation einiger α -Aminoketone in $10^{-2} M$ wässriger Lösung (0,06 M Phosphatpuffer) bei pH 7,50 und 37°. H_2O_2 mit Titanysulfat bestimmt.

⁴ K. BERNEIS, M. KOFLER, W. BOLLAG, A. KAISER und A. LANGEMANN, Exper. 19, 132 (1963). – K. BERNEIS, M. KOFLER, W. BOLLAG, P. ZELLER, A. KAISER und A. LANGEMANN, Helv. chim. Acta 46, 2157 (1963).

⁵ R. HINDERLING, B. PRIJS und H. ERLENMEYER, Helv. chim. Acta 38, 1415 (1955).

⁶ Diesen Befund verdanken wir den Herren F. E. LEHMANN und E. SORKIN, private Mitteilungen.

⁷ O. WARBURG, K. GAWEHN und A. W. GEISSLER, Z. Naturforschung 12b, 393 (1957). – O. WARBURG, W. SCHRÖDER, H. S. GEWITZ und W. VÖLKER, Naturwiss. 45, 192 (1958); Z. Naturforschung 13b, 591 (1958).

⁸ G. WEITZEL, E. BUDDECKE und F. SCHNEIDER, Z. phys. Chem. 323, 211 (1961).

⁹ H. BERG und G. HORN, Naturwiss. 50, 356 (1963).

¹⁰ J. R. MÖSE, Z. Krebsforschung 63, 63 (1959).

¹¹ D. KAYSER, Z. Naturforschung 18b, 748 (1963).

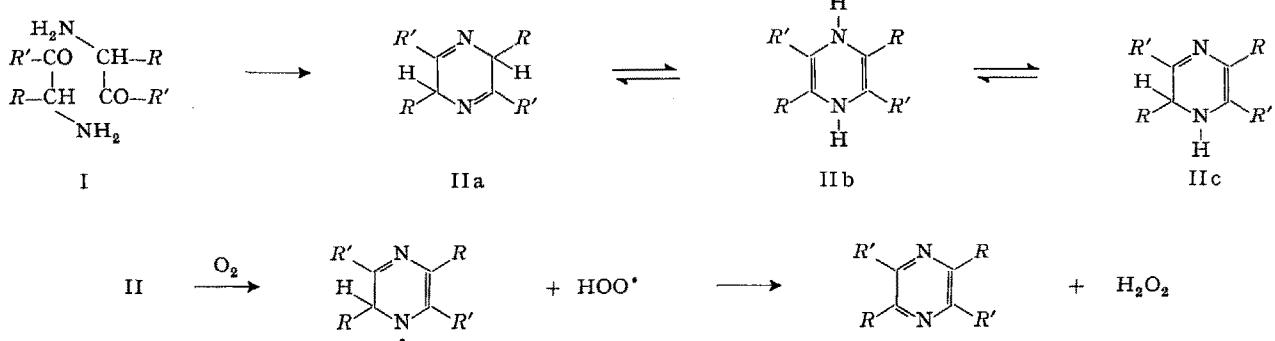
¹² H. BRINTZINGER, B. PRIJS und H. ERLENMEYER, Exper. 16, 468 (1960).

¹³ S. FALLAB und H. ERLENMEYER, Exper. 19, 374 (1963).

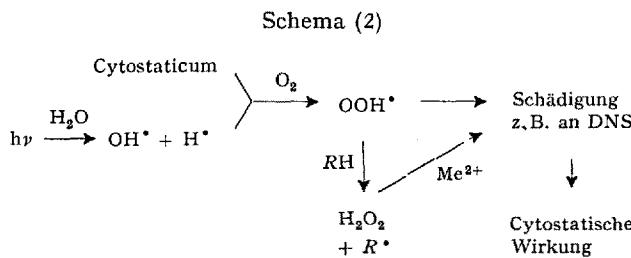
¹⁴ J. A. V. BUTLER und B. E. CONWAY, J. chem. Soc. 1950, 3418. – J. A. V. BUTLER und K. A. SMITH, Nature 165, 847 (1950).

¹⁵ Nach einer Mitteilung von J. R. MÖSE wird auch die erwähnte carcinolytische Wirkung von Clostridien¹⁰ durch den Zusatz von Metallkomplexen erhöht.

Schema (1)



obachtungen unterstützen die Gültigkeit der von uns verfolgten Hypothese, dass sowohl chemisch wie radiobiologisch cytostatische Effekte nach folgendem Schema (2) zustande kommen können:



Offen bleibt die Frage, ob im einen oder anderen Fall die primär gebildeten Radikale die Träger der schädigenden Reaktion sind. Das sich bildende H_2O_2 könnte dann eine inaktive Form dieser Partikeln darstellen, die erst sekundär durch Metallionen wieder aktiviert werden kann und zwar nach Diffusion auch an Stellen, die vom Entstehungsort der Radikale räumlich entfernt sind.

Chemischer Schutz vor der biologischen Wirkung ionisierender Strahlen und Krebstherapie lassen sich, wie diese Zusammenhänge zeigen, in ein gewisses Reziprozitätsverhältnis setzen: Im einen Fall soll der Ablauf der Reaktionskette (2) möglichst minimiert, im anderen Fall in möglichst selektiver Weise maximiert werden. Radio-antiphylaktisch wirksame Substanzen müssten dann den Effekt auch der genannten cytostatischen Verbindungen herabsetzen¹⁶. Wir fanden, dass bei der Autoxydation der Aminoketone Serotonin die Ausbeute an H_2O_2 auf ein Mehrfaches erhöht – ähnlich wie auch bei der Bestrahlung O_2 -haltiger wässriger Lösungen durch Zusatz reduzierender Stoffe die H_2O_2 -Ausbeute erhöht werden kann¹⁷ –

während mit ca. 1 Cysteamin pro Mol Aminoketon die H_2O_2 -Bildung am Anfang nahezu völlig ausbleibt. In welchem Sinne diese Versuche als Hinweise auf ein verschiedenartiges Eingreifen der beiden untersuchten Verbindungen in die mit der Autoxydation verbundenen Reaktionsvorgänge zu deuten sind, werden erst weitere Versuche zeigen.

Wenn Serotonin tatsächlich schädigende Radikale abfangen vermag, so würde die nach radiotherapeutischen Behandlungen sich einstellende Erhöhung des Serotonin-Spiegels¹⁸ die angestrebte selektive Maximierung des Reaktionsablaufes (2) verhindern und so eine unerwünschte Strahlenschutzwirkung herbeiführen. Es wäre wünschenswert zu untersuchen, ob einer dadurch bedingten Wirksamkeitsbegrenzung der cytostatischen Therapie entsprechend Schema (2) durch eine Zufuhr von Metallionen entgegengewirkt werden kann.

Summary. Cytostatic α -aminoketones are found to produce H_2O_2 on autoxidation. Possible pathways of radical and peroxidative reactions in cytostatic therapy are discussed.

R. ZELL, H. BRINTZINGER,
B. PRIJS und H. ERLENMEYER

Institut für anorganische Chemie der Universität Basel (Schweiz), 12. Dezember 1963.

¹⁶ K. BERNEIS et al.⁴ fanden, dass das Strahlenschutzmittel Cysteamin den Abbau von Desoxyribonukleinsäure bei der Autoxydation der von ihnen untersuchten Methylhydrazinverbindung hemmt.

¹⁷ J. LOISELEUR und R. LATARJET, Bull. Soc. Chim. Biol. 24, 172 (1942).

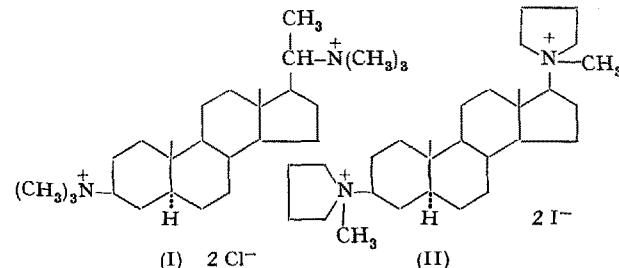
¹⁸ J. RENSON und P. FISCHER, Arch. int. Physiol. Biochem. 67, 142 (1959).

Muscle-relaxant Properties of a Steroid bis-Quaternary Ammonium Salt

There has long been a need for a muscle relaxant with a short duration of action, which produces a flaccid paralysis and is free from the initial muscle contracture associated with the depolarizing drug, suxamethonium. We have been interested in this field for many years and some time ago began a search for a synthetic compound possessing these desirable features.

A general interest in the steroid ring system as a skeleton for non-hormonal drugs¹ and a consideration of the curarizing properties reported for the steroid alkaloid

malouétine chloride or $3\beta,20\alpha$ -bisdimethylamino- 5α -pregnane bismethochloride (I)² led us to investigate a number of steroid bis-quaternary ammonium salts³. ALAUDDIN and MARTIN-SMITH⁴ have recently speculated on the properties of salts of this type, and some independent synthetic work has been reported by CRABBÉ, DURAZO, SALOMA and HOLTON⁵. Many of our steroid derivatives had interesting properties and one of them, $3\beta,17\beta$ -dipyrrolidin-1'-yl- 5α -androstane bismethiodide, M & B 9105 (II), was selected for detailed pharmacological study.



¹ M. DAVIS, J. chem. Soc. 1962, 178.

² A. QUEVAUVILLER and F. LAINÉ, Ann. pharm. franç. 18, 678 (1960). – M.-M. JANOT, F. LAINÉ, Q. KHUONG-HUU, and R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim. Fr. 1962, 111. – M.-M. JANOT, Plenary Lectures presented to the International Symposium on Pharmaceutical Chemistry, Florence, 1962 (Butterworth, London 1963), p. 451.

³ MAY & BAKER LTD., British Patent Application No. 9262/62.

⁴ M. ALAUDDIN and M. MARTIN-SMITH, J. Pharm., Lond. 14, 325 (1962).

⁵ P. CRABBÉ, M. J. DURAZO, R. M. SALOMA, and P. G. HOLTON, Bull. Soc. chim. Belg. 77, 203 (1962).