

Über die trypanocide Wirksamkeit von Terephthalaniliden

Über die antileukämische Wirksamkeit von Terephthalaniliden¹ bei der experimentellen Mäuseleukämie (L-1210, P815) wurde bereits verschiedentlich berichtet. Es wurde schon darauf aufmerksam gemacht, dass manche Verbindungen überdies eine spezifische bakteriostatische Wirksamkeit gegen *Mycobacterium tuberculosis* in vitro zeigen² und auch im Mäuseversuch eine therapeutische Wirkung bei Trypanosomeninfektionen aufweisen³. Wir möchten über diese letzte Eigenschaft einige weitere Angaben machen.

Für die Versuche verwendeten wir Laboratoriumsstämme von *Trypanosoma brucei* und *T. congolense*⁴. Eine Versuchsgruppe umfasste je 10 Mäuse, die mit einer einmaligen intraperitonealen Injektion von $6 \cdot 10^6$ *T. brucei* bzw. $3 \cdot 10^5$ *T. congolense* pro Maus infiziert wurden.

Die zu prüfenden Substanzen wurden in wässriger Lösung zwei- bis viermal an aufeinanderfolgenden Tagen, beginnend am Tag der Infektion, subkutan appliziert.

Es zeigte sich bald, dass bei Dosierungen von insgesamt 2mal 5 mg/kg sehr viele Substanzen dieser Verbindungs-kategorie wirksam waren. Wir haben deshalb in der Folge

nur noch mit Dosierungen von 4mal 0,5 und 4mal 0,25 mg/kg subkutan geprüft, um schon mit den Screening-resultaten zu einer Selektion zu gelangen. Substanzen, die mit diesen Dosen keine rezidivfreien Befunde ergaben, wurden als unwirksam ausgeschieden. Die Prüfung auf Sterilität des peripheren Blutes erfolgte in Abständen von mehreren Tagen nach der letzten Substanzgabe. Tiere mit trypanosomenfreiem Blut wurden abschliessend nach vier Wochen untersucht. Eine Substanz wurde als wirksam befunden, wenn diese letzte Prüfung, mit der eventuelle Rezidive erfasst werden, keinen positiven Trypanosomenbefund ergab.

In der Tabelle ist eine Auswahl von wirksamen Verbindungen aufgeführt. Es ist ersichtlich, dass *T. brucei*

¹ R. HIRT und R. BERCHTOLD, Exper. 17, 418 (1961); III. Intern. Chemotherap. Symp. Stuttgart (1963), im Druck.

² Phthalanilides, a new group of potential antitumor agents. Cancer Chemotherapy Reports 1962.

³ R. HIRT, Symposium on the Chemotherapy of Cancer, Lugano (1964), im Druck.

⁴ Diese Stämme wurden uns freundlicherweise vom Tropeninstitut Basel zur Verfügung gestellt.

$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}\cdot\text{Z}\cdot\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{R}$		<i>Trypanosoma brucei</i>		<i>Trypanosoma congolense</i>		
	R	Z	4 · 0,5 mg/kg s.c.	4 · 0,25 mg/kg s.c.	4 · 0,5 mg/kg s.c.	4 · 0,25 mg/kg s.c.
I			—	+	+	+
II			—	+	+	+
III			—	—	—	+
IV			—	+	+	+
V			—	+	÷	÷
VI			—	+	÷	+
VII			—	+	+	+
VIII			—	÷	—	+

Bewertung: + = Trypanosomen nachgewiesen. ÷ = Schwacher Trypanosomenbefund (1 von 10 Mäusen). — = Frei von Trypanosomen 4 Wochen nach der Infektion.

gegenüber dieser Verbindungsklasse empfindlicher ist als *T. congolense*.

Die bisher wirksamste Verbindung, das 4,4'-Bis(4-methylimidazolin-2-yl)-terephthalanilid (III) wurde in der Form seines Dimethansulfonates eingehend untersucht. Wir bevorzugten dieses Salz, da es besser wasserlöslich und wesentlich gewebsverträglicher war als z.B. das Dihydrochlorid oder die freie Base. Die Eliminierung von Trypanosomen aus dem peripheren Blut erfolgt mit diesem Präparat ausserordentlich rasch. So wird bei fortgeschrittener Trypanosomeninfektion (320 000 Congo-sensitrypanosomen/mm³ Blut) nach einer einmaligen subkutanen Gabe von 3 mg/kg das Blut innerhalb von 24 h trypanosomenfrei. Um aber in diesem Versuch eine rezidivfreie Therapie zu erzielen, muss die einmalige Dosis auf 4-6 mg/kg erhöht werden.

Das Dimethansulfonat von III ist in physiologischem Milieu schlecht löslich, fällt daher nach subkutaner Injektion teilweise aus und bleibt längere Zeit liegen. Dieser Depotwirkung ist offenbar die gute prophylaktische Wirksamkeit dieser Verbindung zuzuschreiben. Bisherige Versuche mit 50 mg/kg s.c. ergaben eine 5 monatige Prophylaxe gegenüber Bruceiinfektionen.

Summary. Compounds of the terephthalanilide series show, besides their antileukemic and bacteriostatic properties, considerable activity against *Trypanosoma brucei* and *T. congolense*.

GISELA SCHMIDT

Forschungsinstitut, Dr. A. Wander AG, Bern (Schweiz),
7. Dezember 1964.

Fat-Mobilizing Substance in the Urine of Patients with Diabetes and with Pituitary Diseases and the Effect of Insulin on its Action

CHALMERS et al.^{1,2} extracted a fat-mobilizing substance (FMS) from the urine of fasting persons, which causes weight loss, hypoglycaemia, elevation of lipids in serum and in liver of mice. Persons on normal diet do not excrete this material. The authors found this substance also in the urine of diabetic patients with ketosis. These results were confirmed in the present experiments.

The urine extract (prepared by CHALMER's method) of persons on restricted diet (1000 calories, 50 g carbohydrate daily, for four days) caused weight loss in mice when 0.3 ml of the extract was given every other day subcutaneously to groups of mice, each group having three animals. The mice were weighed every other day for nine days and the food ingested was weighed every day. The extract of urine of the persons on adequate diet (2000 calories and 200 g of carbohydrate per day) was administered similarly. The control animals received saline. In other experiments, 0.5 ml of urine extract was given subcutaneously to mice and 2-4 h later the total lipid content of liver and of serum was determined, while the controls received saline. Blood sugar determinations were carried out similarly, but only after 2 h. All these investigations were carried out on 13 persons without endocrine disease. All mice receiving saline gained in weight during nine days (mean $+ 3.13 \pm 0.23$ g). All but one animal receiving extracts of urine excreted on adequate diet also gained in weight (mean $+ 2.25 \pm 0.35$ g). All but two animals receiving extracts of urine excreted on restricted diet lost weight (mean $- 1.93 \pm 0.21$ g); the weight of these two animals did not change. The food intake of all animals was the same, the weight loss was not due to decreased appetite. The treated animals, while losing weight, were as lively as the controls; no toxic manifestation occurred. When giving the FMS intermittently, decrease and increase of body weight occurred in succession.

The serum lipid values in mice increased after injecting extracts of urine excreted on restricted diet (mean $+ 145.4 \pm 11.53$ mg%), whereas the urine extract excreted on adequate diet had very low activity (mean $+ 27.9 \pm 12.11$ mg% increase). Similarly the liver lipid

Table I. The effect of urine extract of acromegalic patients on adequate diet

	Change of:			
	Body-weight g%	Serum-fat mg%	Liver-fat g%	Blood-sugar mg%
Acromegaly	- 1.7	+ 235	+ 1.3	- 65
	+	+	+	+
	- 1.3	+ 180	+ 1.2	- 33
	+	+	+	+
Acromegaly + diabetes	- 3.0	- 105	- 0.7	- 10
	+	o	o	o

Table II. The inhibitory effect of different amounts of insulin on the action of FMS

	Liver-fat g%	Serum-fat mg%
Saline	6.30	325
FMS	7.65	505
FMS + 0.2 U insulin	6.20	345
FMS + 0.1 U insulin	7.05	440
FMS + 0.04 U insulin	7.35	560
0.2 U insulin	5.95	260
0.1 U insulin	6.15	340
0.04 U insulin	6.35	330

¹ T. M. CHALMERS, G. L. S. PAWAN, and A. KERWICK, *Lancet* 1960 ii, 6.

² T. M. CHALMERS, *Extrait de L'obésité* (Expansion Scientifique, Paris 1963).