

Table II. Effect of imipramine and desipramine on conjugation in guinea-pig liver homogenate

Concentration (mM)	Rate of conjugation (nmoles/mg wet wt./h)			
	Imipramine Bilirubin	<i>o</i> -Amino- phenol	Desipramine Bilirubin	<i>o</i> -Amino- phenol
0	0.32	2.66	0.25	2.29
0.01	0.32	2.64	0.22	2.24
0.1	0.29	3.00	0.26	2.31
1.0	0.28	1.95	0.23	1.78
10.0	0.20	0	0.24	0
	(3)	(3)	(3)	(3)

Number of experiments in parentheses.

by the existence of separate systems conjugating bilirubin and *o*-aminophenol. Imipramine reduces the conjugated bilirubin content of slices which is consistent with the reduction of conjugated bilirubin in the medium containing the liver slice measured by the rate of conjugation. Desipramine does not decrease the amount of conjugated pigment in the slice. Like the phenothiazines<sup>11</sup> both drugs strikingly increase the amount of unconjugated bilirubin in the slice. This may be a surfactant property of the iminodibenzyl molecule and is to be expected because of the amphipathic structure of the molecule.

Imipramine inhibits bilirubin and *o*-aminophenol conjugation but desipramine only inhibits *o*-aminophenol conjugation. Since imipramine and desipramine jaundice is cholestatic or hepatocellular in type it is doubtful whether it can be explained by inhibition of UDP-glucuronyltransferase alone but enzyme inhibition may be one of the factors involved. The most striking feature of the effect of these drugs *in vitro* is their ability to increase bilirubin uptake by rat liver slices, a property which they share with phenothiazine derivatives<sup>11</sup> but with no other drugs tested<sup>12,13</sup>.

Table III. Effect of imipramine and desipramine on bilirubin uptake in rat liver slices

Concen- tration (mM)	Bilirubin content µg/g wet wt.			
	Imipramine Con- jugated	Uncon- jugated	Desipramine Con- jugated	Uncon- jugated
0	73.0	8.3	33.3	37.2
0.01	67.6	7.3	32.0	22.4
0.1	63.4	29.9	34.1	35.8
1.0	37.6	64.6	29.8	71.4
10.0	22.4	199.6	27.4	177.6
	(6)	(6)	(5)	(5)

Number of experiments in parentheses.

**Zusammenfassung.** Der Einfluss von Imipramin und Desipramin auf die Umwandlung von Bilirubin und *o*-Aminophenol in deren jeweilige Glukuronide wurde *in vitro* in der Leber untersucht. Imipramin blockiert die Umwandlung von Bilirubin und von *o*-Aminophenol, während Desipramin nur diejenige von *o*-Aminophenol blockiert.

T. HARGREAVES, R. F. PIPER  
and R. TRICKEY

Department of Chemical Pathology,  
Area Pathology Laboratory,  
Exeter (Devon, England), 17 February 1969.

<sup>11</sup> T. HARGREAVES, Nature 206, 154 (1965).

<sup>12</sup> T. HARGREAVES, Ph. D. Thesis, Univ. of London (1966).

<sup>13</sup> We thank Dr. C. MAXWELL of Geigy Pharmaceuticals for supplies of imipramine and desipramine. We also thank the South Western Regional Hospital Board and the Northcott Devon Medical Foundation for generous financial assistance.

## Über die Wirkung von rac-endo-2-Bornanamin und von verwandten Verbindungen gegen Influenza-A<sub>2</sub>-Virus Asia

Bei der routinemässigen Prüfung einer grösseren Reihe verschiedenartiger Verbindungen zeigte sich, dass rac-endo-2-Bornanamin-hydrochlorid (**1**) an der Maus gegen Influenza-A<sub>2</sub>-Virus Asia wirksam ist. Diese Beobachtung veranlasste uns, Derivate von **1** und verwandte Verbindungen herzustellen und auf ihre Wirkung gegen Influenzaviren zu prüfen (Tabellen I und II).

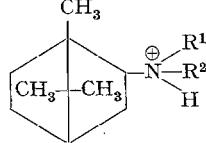
**Resultate.** In den Tabellen I und II sind die Prüfungsergebnisse zusammengestellt. Es ist festzustellen, dass keine der Verbindungen **2** bis **42** wirksamer ist als rac-endo-2-Bornanamin (**1**). Der (+)-Antipode (**30**) des endo-2-Bornanamins schneidet nicht besser ab als das Racemat **1**. Das Racemat (**31**) und der (-)-Antipode (**32**) des exo-2-Bornanamins sind den besten Verbindungen der endo-Reihe unterlegen. Einzig die N-Methylverbindung **2** und die N-(*p*-Fluorobenzyl)-Verbindung **7** erreichen nahezu die Wirkung von **1**. Die systematische Abwandlung der Substitution des N-Benzylrestes führte nicht zu wirksameren Präparaten (Verbindungen **5** bis **20**). Das gleiche gilt für den Übergang aus der N-Benzylreihe

in die N-Phenäthyl-Reihe (Präparat **21**) und in die N-(Phenylpropyl)-Reihe (Präparat **23**). Schliesslich ist zu erwähnen, dass alle Verbindungen, in welchen das N-Atom des Bornanamins infolge der Substitution nicht basisch ist, unwirksam oder höchstens schwach wirksam sind (Tabelle II).

Unter denselben Versuchsbedingungen wie für die Prüfung auf Wirkung gegen Influenza-A<sub>2</sub>-Virus Asia entfaltete das rac-endo-2-Bornanamin (**1**) gegen die Influenzaviren A (PR<sub>8</sub>), A<sub>1</sub> (Melbourne, FM<sub>1</sub> und E<sub>1/53</sub>) keine Wirkung. Die Verbindung war jedoch schwach wirksam gegen Infektionen mit Influenza-B-Viren (Lee, Johannesburg, Stockholm) und Parainfluenza-Virus 1 (Sendai).

**Prüfung auf Wirkung gegen Influenza-A<sub>2</sub>-Virus Asia.** Gruppen von je 10 Füllinsdorfer Albinomäusen aus geschlossener randomisierter Auszucht im Gewicht von 14–15 g werden unter leichter Äthernarkose je mit 0,05 ml einer Influenza-A<sub>2</sub>-Virus-Asia-Suspension intranasal infiziert. Zur Herstellung des Inoculums werden Lungen von infizierten Tieren unter sterilen Kautelen im Mörser mit

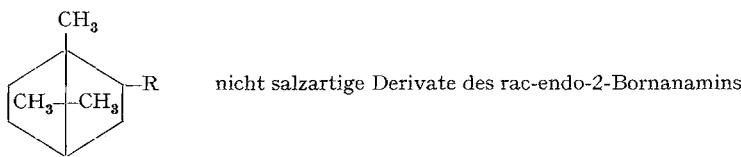
Tabelle I. Wirkung gegen Influenza-A<sub>2</sub>-Virus Asia an der Maus


 $X^\ominus$  Salze von endo- und exo-2-Bornanaminen

No.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X	Smp. (°C)	Darstellungs-methode	Einzel-dosis mg/kg	Wirksamkeit in % am 6.	10.	21. Tag	
Racemate der endo-Reihe										
<b>1</b>	H	H	Cl	> 300	A	125 50 10 5	p.o. p.o. s.c. i.p.	90 84 48 28	58 44 20 11	28 22 7 4
<b>2</b>	CH <sub>3</sub>	H	Cl	> 300	B	10	p.o.	71	42	28
<b>3</b>	CH <sub>2</sub> -CN	H	Cl	244-245	C	5	p.o.	20	7	0
<b>4</b>	CH <sub>2</sub> -COOC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	Cl	213-214	D	100	p.o.	24	10	4
<b>5</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	272-273	D	25	s.c.	18	10	6
<b>6</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	292-293	E	125	p.o.	40	15	5
<b>7</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	270-272	D	50	p.o.	78	46	33
<b>8</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	> 300	D	50	p.o.	50	30	14
<b>9</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Br	292-293	D	125	p.o.	50	22	9
<b>10</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	288-289	D	50	p.o.	10	4	1
<b>11</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	240-242	E	50	p.o.	13	8	8
<b>12</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	270-271	D	50	p.o.	36	29	16
<b>13</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Br	256-257	D	125	p.o.	72	34	19
<b>14</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Br	264-265	D	50	p.o.	42	34	29
<b>15</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Br	237-238	D	50	p.o.	42	22	10
<b>16</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	214-216	E	125	p.o.	20	9	3
<b>17</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Br	276-278	D	125	p.o.	44	17	6
<b>18</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	> 300	E	125	p.o.	70	43	30
<b>19</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	230-232	E	125 50	p.o. p.o.	56 24	25 9	9 3
<b>20</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	272-274	D	125	p.o.	0	0	0
<b>21</b>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	H	Cl	> 300	F	5	p.o.	22	9	4
<b>22</b>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	H	Cl	271-273	E	50	p.o.	57	31	20
<b>23</b>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	H	Br	238-240	D	10	p.o.	7	0	0
<b>24</b>	CH <sub>2</sub> -	H	Cl	206-207	G	5	s.c.	20	8	3
<b>25</b>	NH <sub>2</sub>	H	Cl	267-269	H	25	p.o.	6	2	1
<b>26</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Cl	217-218	I	10	p.o.	77	40	18

Tabelle I (Schluss)

No.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X	Smp. (°C)	Darstellungs-methode	Einzel-dosis mg/kg	Wirksamkeit in % am 6.	10.	21. Tag
27	CH <sub>2</sub> -	CH <sub>2</sub> -	Br	191–192	D	125 p.o.	40	13	5
28	CH <sub>2</sub> -	CH <sub>2</sub> -	Br	208–210	D	125 p.o.	7	0	0
29	CH <sub>2</sub> -	CH <sub>2</sub> -	Cl	225–227	D	125 p.o.	0	0	0
(+)-Antipode (endo-Reihe)									
30	H	H	CH <sub>3</sub> COO	149–150	A	125 p.o. 50 p.o. 50 s.c.	91 82 88	60 48 65	34 30 53
Racemat (exo-Reihe)									
31	H	H	Cl	> 300	A	25 p.o.	58	36	19
(−)-Antipode (exo-Reihe)									
32	H	H	Cl	> 300	A	25 p.o.	50	29	10

Tabelle II. Wirkung gegen Influenza-A<sub>2</sub>-Virus Asia an der Maus

No.	R	Smp. (°C) (Sdp.)	Darstellungs-methode	Einzeldosis mg/kg	Wirksamkeit in % am 6.	10.	21. Tag
33	NH-CHO	(115–120°/0,002 Torr)	J	10 p.o.	28	16	2
34	NH-CO-CH <sub>3</sub>	123–124	K	50 p.o.	7	0	0
35	NH-COCH()-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> OH	115–117	L	125 p.o.	13	11	10
36	NH-CO-	145–146	K	125 p.o.	24	10	3
37	NH-CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	176–178	K	250 p.o.	0	0	0
38	NH-CO-	(120–125°/0,005 Torr)	K	50 p.o.	15	5	2
39	NH-CO-	124–126	K	250 p.o.	0	0	0
40	NH-SO <sub>2</sub> -	171–173	K	125 p.o.	0	0	0
41	N <sup>NO</sup> CH <sub>2</sub> -COOH	157–159	M	50 p.o.	5	0	0
42		157–158	N	25 p.o.	0	0	0

etwas Quarzsand und Nährmedium für Gewebekulturen fein zerrieben. Die anfallende Aufschwemmung wird dann bei 2000 Touren und 10°C zentrifugiert. Der virushaltige Überstand wird mit dem Nährmedium weiter verdünnt, damit eine Infektionsdosis entsprechend 100mal der LD<sub>50</sub> pro 0,05 ml erreicht wird. Unter diesen Bedingungen sterben die Kontrolltiere am 4. oder 5. Tag nach der Infektion. Die Aktivität der zu prüfenden Substanzen wird am 6., 10. und 21. Tage nach der Infektion durch den Vergleich der Überlebensdauer der behandelten Tiere mit derjenigen der Kontrolltiere auf prozentualer Basis ermittelt. Die Präparate werden 1 h vor sowie 1, 5, 24, 30, 48 und 72 h nach der Infektion verabreicht. Für die orale Applikation mit der Schlundsonde sind die Verbindungen in Gummiarabikum suspendiert; parenteral werden sie, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, injiziert. Die Einzeldosis entspricht etwa 1/10 der DL<sub>10</sub><sup>1</sup>.

*Darstellung der Verbindungen.* Die zur Darstellung der Verbindungen **1–42** verwendeten Methoden A–N sind in den Tabellen I und II angegeben; sie lassen sich wie folgt kurz skizzieren: A) Reduktion von Campher-Oxim mit Raney-Nickel nach H. ADKINS und C. F. WINAUS<sup>2</sup>; Isolierung nach W. HÜCKEL und P. RIECKMANN<sup>3</sup>. B) rac-N-2-Bornyl-N-methyl-*p*-toluolsulfonamid wird in flüssigem Ammoniak bei –50°C mit Natrium behandelt. C) Verbindung **1** wird in Wasser mit Formaldehyd und Kaliumzyanid umgesetzt. D) rac-endo-2-Bornanamin wird in Azeton in Gegenwart von wasserfreiem Kaliumkarbonat mit Alkylhalogeniden umgesetzt. E) rac-endo-2-Bornanamin wird in Benzol in Gegenwart von N-Äthyl-diisopropylamin mit Alkylhalogeniden alkyliert. F) rac-

endo-2-Bornanamin wird in Pyridin mit Phenäthylchlorid alkyliert. G) Verbindung **38** wird mit Lithiumaluminiumhydrid reduziert. H) Verbindung **42** wird mit konzentrierter Salzsäure behandelt. I) rac-endo-2-Bornanamin wird mit Dimethylsulfat-Natronlauge methyliert. J) rac-endo-2-Bornanamin wird mit Ameisensäure formyliert. K) rac-endo-2-Bornanamin wird in Pyridin mit den Säurehalogeniden umgesetzt. L) rac-endo-2-Bornanamin wird mit D-(–)-α-Hydroxy-β,β-dimethyl-γ-butyrolacton umgesetzt. M) rac-N-(2-Bornyl)-glycin wird in 2*N* Salzsäure nitrosiert. N) Verbindung **41** wird mit Trifluoressigsäureanhydrid behandelt.

*Summary.* rac-endo-2-Bornanamine (**1**) shows good activity against infections with influenza A<sub>2</sub> virus (Asia) in mice. None of 41 derivatives or analogues was superior to compound **1**.

W. MOSIMANN, J. BORGULYA  
und K. BERNAUER

Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.,  
Basel (Schweiz), 28. April 1969.

<sup>1</sup> DL<sub>10</sub> ist diejenige Dosis im akuten Toxizitätstest, bei der 10% der eingesetzten Tiere eingehen. Sie wurde nach der Probit-Methode von L. C. MILLER und M. L. TAINTER bestimmt [Proc. Soc. exp. Biol. Med. 57, 261 (1944)].

<sup>2</sup> H. ADKINS und C. F. WINAUS, J. Am. chem. Soc. 55, 2051 (1933).

<sup>3</sup> W. HÜCKEL und P. RIECKMANN, Justus Liebigs Annln Chem. 625, 1 (1959).

## Intranukleäre virusähnliche Partikeln in einem Mammakarzinom

Im Verlauf einer Untersuchungsreihe über die Ultrastruktur von Dysplasien und Tumoren der weiblichen Brustdrüse (BÄSSLER und SCHÄFER<sup>1</sup>; SCHÄFER und BÄSSLER<sup>2</sup>) wurden in einem gut durchuntersuchten soliden Mammakarzinom ungewöhnliche Kerneinschlüsse beobachtet (SCHÄFER<sup>3</sup>), die hier näher beschrieben werden sollen.

*Material und Methode.* Das Untersuchungsmaterial entstammt einer 54 Jahre alten Frau, die seit 14 Tagen einen Knoten in der linken Brust bemerkte. Unmittelbar nach der operativen Entnahme erfolgte für die elektronenmikroskopische Untersuchung die Fixierung kleiner Teile des Tumors in 4,5%igem Glutaraldehyd in Cacodylatpuffer pH 7,3. Spülung in 0,2M Cacodylat-Sucrose-Puffer. Nachfixierung in 2%iger gepufferter Osmiumsäure. Einbettung in Durcupan ACM (Fluka). Anfertigung der Schnitte auf Porter-Blum MT2. Schnittkontrastierung mit Uranylazetat und Bleizitrat. Untersuchung der Schnitte mit Siemens Elmiskop I.

*Lichtmikroskopisch* erweist sich der mandarinengroße, derbe Tumor als ein überwiegend solides, teils intrakanalikular wachsendes Karzinom, das in seiner größten Ausdehnung szirrhöses Wachstum zeigt und nur in einzelnen Bezirken medullär erscheint.

*Elektronenmikroskopische Befunde.* In vielen Zellen des Tumorgewebes konnten in wechselndem Ausmaß folgende 3 Arten von Kerneinschlüssen beobachtet werden: a) größere elektronendichte Partikeln; b) elektronendichte Granula und c) Bündel von Filamenten. Bei den größten Kerneinschlüssen, die zugleich am häufigsten beobachtet wurden, handelt es sich um elektronendichte Partikeln, bei denen ein Durchmesser zwischen 54 und 80 nm gemessen

wurde und die regelmäßig gegenüber dem umgebenden Chromatin durch einen gleichmäßig breiten Hof einer schwach elektronendichten Substanz von etwa 20 nm Breite abgegrenzt sind (Figuren 1a und b). Die Topik dieser Partikeln, die weniger solitär, sondern in Verbänden bis zu 20 Exemplaren deponiert sind, weist innerhalb des Kernes gewisse Regelmäßigkeiten auf: Sie konnten nie im Zentrum eines Kernes, sondern nur in dessen Randbezirken beobachtet werden und haben stets enge topische Beziehungen zu Chromatin. Auch in den perinukleären Chromatinarealen sind sie häufig anzutreffen. Innerhalb ihrer Verbände sind die einzelnen Partikeln nur selten isoliert gelagert, sondern haben häufig eine paarweise und kettenförmige Anordnung. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, dass diese Kerneinschlüsse nicht rund konturiert sind, sondern polygonale Formen aufweisen, wobei hexagonale Konturen vorherrschen (Figur 1b). Ihre Innenstruktur ist nicht homogen osmophil, sondern setzt sich aus kleineren Einheiten mit einem Durchmesser von 40–45 Å zusammen.

Die zweite Art von Kerneinschlüssen, die wesentlich seltener als die erste beobachtet wurde, wird von Ansammlungen elektronendichter Granula dargestellt, die größere Kernareale einnehmen können und in einer Matrix von weniger elektronendichtem Material deponiert sind (Figur 2a). Von diesen Granula lassen sich zwei For-

<sup>1</sup> R. BÄSSLER und A. SCHÄFER, Verh. Dt. Ges. Path. 52, 491 (1968).

<sup>2</sup> A. SCHÄFER und R. BÄSSLER, Virchows Arch. path. Anat. Physiol. A, 346, 269 (1969).

<sup>3</sup> A. SCHÄFER, Zentbl. Path. 171, 473 (1968).