

255. Eine präparative Synthese von Streptozotocin

von E. Hardegger, A. Meier und A. Stoos

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

(29. X. 69)

Zusammenfassung. Durch Umsetzung von D-Glucosamin mit dem bisher unbekannten N-Nitroso-methylcarbamylazid (VII) wurde das Beta-Zytotoxin Streptozotocin (VIII) synthetisch präparativ zugänglich gemacht.

Das Antibioticum Streptozotocin (VIII) [1] wurde als sehr spezifisches und selektives Beta-Zytotoxin erkannt [2], d. h. als eine Substanz, die die Insulin-produzierenden B-Zellen des Pankreas schädigt, ohne die Glucagon-Ausscheidung der A-Zellen dieser Drüse zu beeinflussen.

Die Schädigung der B-Zellen führt in den Versuchstieren infolge Insulinmangels zu einem *Diabetes mellitus*, dessen Schwere sich genau der verabreichten Dosis Streptozotocin entsprechend vom sog. Prädiabetes bis zum diabetischen Koma erstreckt und einregulieren lässt. Da zudem die Ausbeute an diabetischen Tieren, die zur Prüfung und Auswertung von Antidiabetika geeignet sind, aussergewöhnlich hoch ist (92%!), kommt dem Streptozotocin in dieser Hinsicht eine z. Z. einzigartige Bedeutung zu.

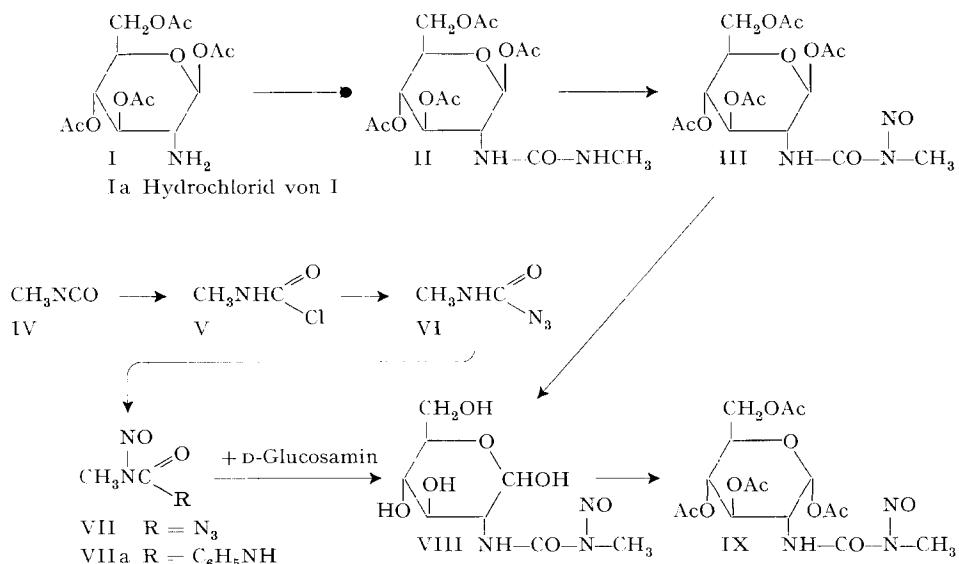
Streptozotocin wird aus Kulturen von *Streptomyces achromogenes* gewonnen [3]. Die Kulturfiltrate sollen pro l bis 400 mg Streptozotocin enthalten, dessen Isolierung aber sehr aufwendig ist, da sie neben anderen Operationen mehrmalige Chromatographie, eine Gegenstromverteilung und enorme Lösungsmittelmengen erfordert [4]. Wässrige Lösungen von Streptozotocin haben bei pH 4 und 30° eine Halbwertszeit von ca. 90 Std., bei pH 1 oder bei pH 7 und darüber erfolgt weitgehende Zersetzung schon in wenigen Stunden [5]. Es ist daher nicht verwunderlich, dass aus 250 l Kulturfiltrat, die ca. 100 g Streptozotocin enthalten könnten, nur 1,1 g analysenreines, kristallisiertes Präparat als Anomerengemisch VIII isoliert wurden [4].

Um für biologische Versuche ausreichende Mengen Streptozotocin zu beschaffen, erscheint die Isolierung aus *Streptomyces*-Kulturen infolge geringer Ausbeute und zu grossem Arbeitsaufwand ungeeignet. Ebenso unbefriedigend für diesen Zweck ist die Synthese von HERR *et al.* [1]: Ausgehend von 1,3,4,6-Tetraacetyl- β -D-glucosamin-hydrochlorid Ia [6] oder dessen Base I (vgl. exper. Teil) erhielten sie über das Methylureid II in ausgezeichneter Ausbeute das krist. recht stabile β -Tetraacetylstreptozotocin (III); aber bei der Ammonolyse¹⁾ und der Umesterung²⁾ gab III ein kompliziertes

¹⁾ Die besten Ergebnisse erhielten wir durch dreitägige Behandlung unter Feuchtigkeitsausschluss mit der 36fachen Menge Ammoniak in Methanol bei -28° (vgl. exper. Teil).

²⁾ Umesterung mit katalytischen Mengen NaOCH₃ oder Mg(OCH₃)₂ in Methanol brachte keinen Fortschritt gegenüber der Ammonolyse.

Gemisch mit wenig Streptozotocin, zu dessen Isolierung die Ansätze fast gleich wie die *Streptomyces*-Kulturen aufgearbeitet werden mussten³⁾.



Unsere neue präparativ erfolgreiche Synthese, die sich auf Erfahrungen der Peptidchemie aufbaut, umgeht alle vorerwähnten Schwierigkeiten und erlaubt unter Anwendung eines neuen Reagens in einem Schritt auf Anhieb Streptozotocin in etwa 30-proz. Ausbeute aus D-Glucosamin herzustellen.

Das neue Reagens ist N-Nitroso-methylcarbamylazid (VII), welches durch Umsetzung des bereits bekannten [7], völlig ungefährlichen Methylcarbamylazids⁴⁾ (VI) in Pyridin mit Nitrosylchlorid in Acetanhydrid in Anlehnung an eine Vorschrift von NEWMAN & KUTNER [8] leicht zugänglich ist. Kristallisiertes N-Nitroso-methylcarbamylazid (VII) ist gegen Stoss und Erwärmung empfindlich; es wird am besten in der bei der Herstellung anfallenden ungefährlichen ätherischen Lösung weiterverarbeitet. Mit Anilin entstand aus VII erwartungsgemäss N-Methyl-N-nitroso-N'-phenyl-harnstoff (VIIa), der sich mit einem durch Nitrosierung von N-Methyl-N'-phenyl-harnstoff hergestellten Präparat als identisch erwies [9]. Umsetzung von VII mit D-Glucosamin in Pyridin, bzw. mit D-Glucosamin-hydrochlorid in Pyridin nach Zugabe von Kalium-*t*-butylat, führte zum Streptozotocin (VIII), das nach wenigen einfachen, aber möglicherweise ziemlich verlustreichen Reinigungsoperationen in ca. 30-proz. Ausbeute analysenrein erhalten wurde.

Unser synthetisches, überwiegend in der α -Form vorliegendes Streptozotocin haben wir spektroskopisch und durch Umwandlung mit Acetanhydrid-Pyridin in das α -Tetraacetylstreptozotocin (IX) ($[\alpha]_D = +120^\circ$, Smp. 54° Zers.), identifiziert; das

³⁾ Briefliche Mitteilung von R. R. HERR, UPJOHN Co., Kalamazoo, Michigan, USA.

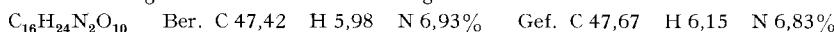
⁴⁾ Das Azid VI wurde seinerzeit [7] durch Umsetzung von Methylisocyanat (IV) mit N₃H erhalten. Wir ziehen es vor, aus Methylisocyanat mit HCl-Gas zunächst Methylcarbamylchlorid (V) herzustellen und dieses mit Natriumazid in VI umzuwandeln.

letztere erwies sich als identisch mit einem aus natürlichem Streptozotocin⁵⁾ hergestellten α -Tetraacetyl-Derivat. Überraschenderweise haben HERR *et al.* [1] aus natürlichem Streptozotocin in gleicher Weise ein anderes Tetraacetyl-Derivat erhalten, welches nach seinen Konstanten ($[\alpha]_D = +41^\circ$ ($c = 1$ in Feinsprit), Smp. 111–114° Zers.) wahrscheinlich eine dimorphe Form unseres β -Tetraacetylstreptozotocins ($[\alpha]_D = +44^\circ$ ($c = 1$ in Feinsprit), Smp. 136° Zers.) darstellt.

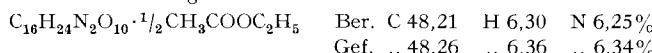
Die biologische Wirksamkeit von natürlichem und unserem synthetischen Streptozotocin (VIII) stimmt sowohl qualitativ wie quantitativ bestens überein⁶⁾.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS (Projekt 4006) und der Fa. F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG. in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

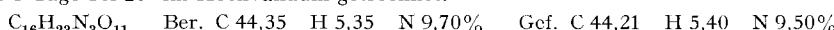
Experimentelles. – *1,3,4,6-Tetraacetyl-N-methylcarbamyl- β -D-glucosamin (II)* [1]. In Anlehnung an analoge Umsetzungen [10] wurde eine Lösung von 5 g 1,3,4,6-Tetraacetyl- β -D-glucosamin (I) [6⁷⁾] in 150 ml Benzol unter Stickstoff mit 1,65 g Methylisocyanat in 10 ml Benzol versetzt, 30 Min. bei 75° und 30 Min. bei 20° gerührt, filtriert, und der Niederschlag mit 200 ml Benzol gewaschen und getrocknet⁸⁾. Aus Aceton-Petroläther 5,2 g, Smp. 145°; $[\alpha] = +17,7^\circ$ (589 nm), $+17,9^\circ$ (578 nm), $+20,5^\circ$ (546 nm), $+34,8^\circ$ (436 nm), $+55,6^\circ$ (365 nm) ($c = 1$ in Chloroform). Zur Analyse wurde 4 Tage bei 20° im Hochvakuum getrocknet.



Aus Essigester und wie oben getrocknet:

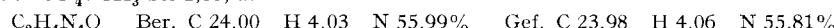


β -Tetraacetylstreptozotocin (III) [1]. Unter Stickstoff wurden 25 g des mit $\frac{1}{2}$ Mol. Essigester krist. Harnstoff-Derivats II in 170 ml abs. Pyridin suspendiert und unter Röhren im Verlauf von 15 Min. bei 10° mit 14 ml 4,5 N Nitrosylchlorid [11] in Acetanhydrid tropfenweise versetzt [8]. Die gelbliche Lösung wurde nach 5 Min. Röhren in Eiswasser gegossen. Das dabei ausgefallene β -Tetraacetyl-streptozotocin (III) wurde nach 1 Std. Stehen bei 0° abfiltriert und mit 1 l Eiswasser gewaschen: 19,8 g, Smp. 136° (Zers.), gut löslich in Methanol, Alkohol und Aceton, GRIESS-Test positiv [12]. $[\alpha] = +44,2^\circ$ (589 nm), $+45,5^\circ$ (578 nm), $+52,6^\circ$ (546 nm), $+104^\circ$ (436 nm), $+188^\circ$ (365 nm), ($c = 1$ in Feinsprit). NMR. in Dimethylsulfoxid, H-C(1) bei 5,98, d/8,5. Zur Analyse wurde 3 Tage bei 20° im Hochvakuum getrocknet.



*Methylcarbamylchlorid (V)*⁹⁾. Über 35,2 g Methylisocyanat in 250 ml Tetrachlorkohlenstoff wurde 3 Std. bei 0–5° trockenes HCl-Gas geleitet. Dann wurde 1 Std. bei 0° unter HCl-Gas gerührt und auf –20° gekühlt. Der farblose Niederschlag von Methylcarbamylchlorid (V) wurde abfiltriert und mit kaltem Hexan gewaschen: 40,3 g (nicht weiter gereinigt). IR. in CCl_4 : 3450 (NH): 1750, 1495, 1200 (Amid) cm^{-1} .

Methylcarbamylazid (VI) [7]⁴⁾. 935 mg rohes V in 10 ml Aceton und 700 mg aktiviertes [14] Natriumazid wurden 3 Std. bei 4° gerührt. Das Azid VI wurde in Äther aufgenommen. Aus Äther-Hexan 812 mg farblose Kristalle, Smp. 48–48,5°. IR. in CCl_4 bei 2160 (Azid) und 1725 (Amid) cm^{-1} . NMR. in CCl_4 : CH_3 bei 2,85, d.



⁵⁾ Das Präparat wurde uns freundlicherweise von der UPJOHN Co., Kalamazoo, Michigan, USA, zur Verfügung gestellt, wofür wir bestens danken.

⁶⁾ Wir danken Prof. A. R. RENOLD, Institut für klinische Biochemie der Universität Genf, und der Fa. F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG in Basel für die Prüfung der Präparate.

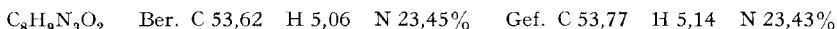
⁷⁾ $[\alpha] = +24,8^\circ$ (589 nm), $+26,5^\circ$ (578 nm), $+30,0^\circ$ (546 nm), $+53,2^\circ$ (436 nm), $+86,7^\circ$ (365 nm) ($c = 1$ in Chloroform).

⁸⁾ Für größere Ansätze wurde anstelle von Benzol besser Chloroform und unverdünntes Isocyanat verwendet, z. B. 25 g I in 125 ml abs. Chloroform. Zur Aufarbeitung wird eingedampft und der Rückstand umkristallisiert.

⁹⁾ Schon aus COCl_2 und $\text{NH}_2\text{CH}_3 \cdot \text{HCl}$ hergestellt [13], Smp. 90°.

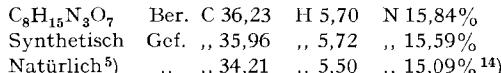
N-Nitroso-methylcarbamylazid (VII). 3 g VI in 40 ml Pyridin wurden unter Rühren mit 10 ml 4,1N Nitrosylchlorid in Acetanhydrid im Verlauf von 3 Min. versetzt, wobei die Temperatur von 0° auf 5° stieg. Nach 10 Min. Rühren bei 0° wurde auf Eis gegossen, in Äther aufgenommen und unter Zugabe von Eis mit 2N Salzsäure, 1N KHCO_3 und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, dann mit Magnesiumsulfat getrocknet. Die getrocknete ätherische Lösung enthielt 2,6 g (66% d. Th.) Nitrosoazid VII (Rf = 0,45 in Äther-Hexan 1:6) und Spuren eines unbekannten Nebenprodukts, welches weder durch Chromatographie an Silicagel mit Petroläther-Äther 1:1 noch durch Destillation im Kugelrohr bei 50°/0,3 Torr entfernt werden konnte¹⁰⁾.

N-Nitroso-N-methyl-N'-phenylharnstoff (VIIa). Eine 1,03 g VII enthaltende ätherische Lösung wurde mit 10 ml abs. Äthanol versetzt, bei 20° vom Äther befreit und nach Zugabe von 2,23 g Anilin 2 Std. bei 50° gerüttelt. Dann wurde mit Äther verdünnt, mit 2N Salzsäure und Eis und mit ges. NaCl-Lösung ausgeschüttelt, mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde an Kieselgel mit Hexan-Äther 6:1 chromatographiert; 373 mg (26%), Smp. 88–88,5°, Rf = 0,25 in Hexan-Äther 6:1.



Streptozotocin (VIII). Die ätherische Lösung von ca. 13 g VII wurde mit 100 ml Pyridin versetzt, bei 20° im Vakuum vom Äther befreit und bei 0° zu einer Suspension von 9 g D-Glucosamin [15]¹¹⁾ in 500 ml Pyridin gegeben. Nach 45 Min. Rühren bei 0° wurde die entstandene klare gelbliche Lösung in 3 l Äther gegossen. Nach 1 Std. wurde der gelbliche Niederschlag abgesaugt, mit Äther gewaschen und bei 20° im Hochvakuum getrocknet: 12,9 g, die bei 20° in 500 ml abs. Äthanol aufgenommen wurden. Die filtrierte alkoholische Lösung wurde durch eine Säule von 250 g Silicagel filtriert und diese bis zur Elution der schnell wandernden gelblichen Zone mit abs. Alkohol gewaschen. Das Eluat (8,1 g) wurde in 400 ml Äthanol-Chloroform 1:1 gelöst, durch eine Säule von 800 g Silicagel filtriert und das Streptozotocin (VIII) mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch eluiert: 4,2 g (31%) reines, leicht gelbliches Streptozotocin (VIII).

In einem weiteren Ansatz wurden 774 mg VII in 6 ml Pyridin mit einer Lösung umgesetzt, welche aus 862 mg fein zerriebenem D-Glucosamin-hydrochlorid in 80 ml Pyridin und 4 ml 1N Kalium-t-butylat in t-Butanol bei 20° unter 90 Min. Röhren hergestellt worden war¹²⁾. Aufarbeitung wie vorstehend gab 294 mg (28%) Streptozotocin. Smp. ca. 106° (Zers.) [1]: $[\alpha]_D = +70^\circ$ ($c = 1,36$ in Feinsprit), Endwert +39° ($c = 1,11$ in Wasser) nach 70 Min., Rf = 0,65 in abs. Äthanol-Chloroform 1:1. IR. in Nujol: NH, OH bei 3400–3220, Amid bei 1710, NO bei 1535 cm^{-1} [4]. NMR. in Deuteropyridin: CH_3 bei 3,13 s, H-C(1), β -Form bei 5,65, d/8, ($\frac{1}{6}$) und H-C(1), α -Form bei 5,98, d/3, ($\frac{5}{6}$); NH, α -Form bei 8,64 d/8 ($\frac{5}{6}$) und NH, β -Form bei 9,54 d/8 ($\frac{1}{6}$) [1]. UV. (in Feinsprit): 6250 bei 229 nm und VIS. (in Feinsprit) 75 bei 380 nm, 102 bei 394 nm, 83 bei 412 nm [4]¹³⁾.



Ammonolyse von β -Tetraacetylstreptozotocin (III). Eine Lösung von 30 mg (1 g) III in 3 ml (100 ml) abs. Methanol wurde mit 1 ml (33 ml) 10N Ammoniak in abs. Methanol versetzt und bei -28° gehalten. Nach 1 Std., 6 Std., 1 Tag und 3 Tagen wurden Proben des Gemisches an Silicagel

¹⁰⁾ Ca. 2 mg Azid VII explodierten bei der Mikroanalyse und ca. 200 mg explodierten nach dem Abdampfen des Äthers bei 20°, ohne grossen Schaden anzurichten. Die nicht explosive ätherische Lösung ist im Kühlschrank mindestens 2 Wochen ohne merkliche Zersetzung haltbar.

¹¹⁾ Das Präparat, Smp. 119–120°, besteht überwiegend aus der β -Form. Es ist im Kühlschrank mindestens 1 Monat haltbar.

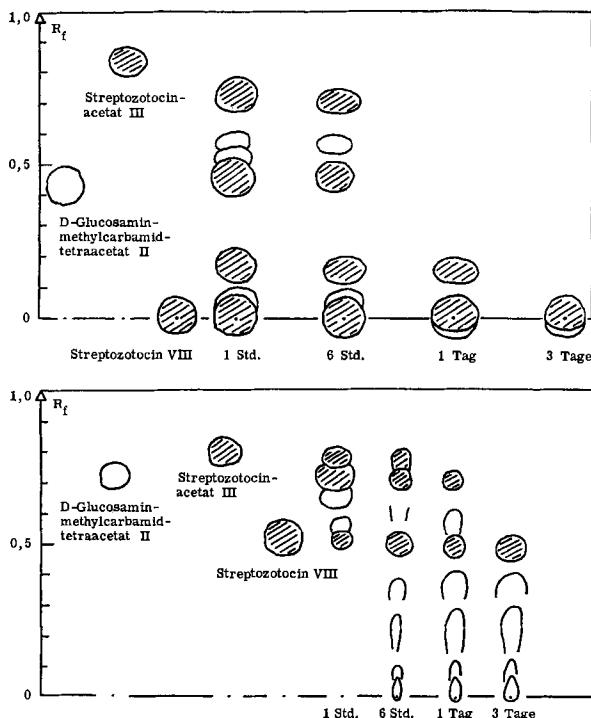
¹²⁾ Die Reaktion des Hydrochlorids mit Kalium-t-butylat kann mit pH-Universalindikatorpapier verfolgt werden. Die Lösung zeigt anfänglich auf dem Papier einen gelben Fleck (pH 6) mit dunkelblauem Zentrum (pH 11). Der Endpunkt der Reaktion wird durch eine gleichmässig grüne Farbe (pH 7–8) des Flecks angezeigt.

¹³⁾ Entsprechende Banden des Naturprodukts im UV. 6360 bei 228 nm und im VIS. 98 bei 380 nm, 127 bei 394 nm, 106 bei 412 nm zeigen innerhalb der Fehlergrenzen Übereinstimmung.

¹⁴⁾ Möglicherweise hat die Substanz beim Transport Schaden erlitten oder sie war mit einem Puffer stabilisiert.

chromatographiert, wobei eindeutig Streptozotocin (VIII) neben anderen nicht identifizierten Produkten nachgewiesen wurde (s. Figur).

Chromatogramme aus der Ammonolyse



Laufmittel: Oberes Chromatogramm $\text{CHCl}_3\text{-Alkohol } 19:1$; unteres Chromatogramm $\text{CHCl}_3\text{-Alkohol } 1:1$

Entwicklung: ○ Schwefelsäure; ● GRIESS-Reagens [11]

α -Tetraacetylstreptozotocin (IX). 265 mg synthetisches bzw. natürliches⁵⁾ Streptozotocin wurden in 2 ml Pyridin mit 1 ml Acetanhydrid 3 Std. bei 20° gehalten und im Hochvakuum bei 35° eingedampft. Chromatographie an Silicagel mit Äther-Hexan 6:1 gab 380 mg α -Tetraacetyl-streptozotocin, Smp. ca. 54° (Zers.), $[\alpha]_D = +120^\circ$ ($c = 1$ in Feinsprit); $R_f = 0,4$ in Äther-Hexan 6:1. NMR. in Deuterochloroform: H-C(1), α -Form bei 6,30 d/4.

$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{11}$	Ber. C 44,34	H 5,35	N 9,70%
Synthetisch	Gef. „, 44,12	, 5,38	, 9,63%
Natürlich	„, , 44,40	, 5,52	, 9,61%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. R. HERR, H. K. JAHNKE & A. D. ARGOUDELIS, J. Amer. chem. Soc. 89, 4808 (1967).
- [2] N. RAKIETEN, M. L. RAKIETEN & M. V. NADKARNI, Cancer Chemotherapy. Rep. 29, 91 (1963); A. GONET & A. E. RENOLD, Diabetologia 2, 151 (1966); G. C. GERRITSEN & W. E. DULIN, sowie A. JUNOD, A. E. LAMBERT & A. E. RENOLD, 6. Congr. intern. Diabetes Fed. (Stockholm 1967); R. K. L. MANSFORD & L. OPIE, Lancet 1968, I, 670; A. JUNOD, A. E. LAMBERT, L. ORCI, R. PICTET, A. E. GONET & A. E. RENOLD, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 126, 201 (1967); H. J. LEESE & K. R. L. MANSFORD FEBS Letters 1969, 193. Weitere Lit. über biologische Wirkungen des Streptozotocins bei A. MEIER, Diss. ETH Zürich (im Druck).

- [3] J. J. VAVRA, C. DEBOER, A. DIETZ, L. J. HANKA & W. SOKOLSKI, Antibiotics Ann. 1959–1960, 230.
- [4] R. R. HERR, T. E. EBLE, M. E. BERGY & H. K. JAHNKE, Antibiotics Ann. 1959–1960, 236; D.P. 1090823 (1960) und F.P. 1434920 (1966) der UPJOHN Co.
- [5] E. R. GARRETT, J. Amer. pharmaceut. Assoc., Sci. Ed. 49, 767 (1960).
- [6] M. BERGMANN & L. ZERVAS, Ber. deutsch. chem. Ges. 64, 975 (1931).
- [7] E. OLIVERI-MANDALÀ, Gazz. chim. ital. 43, I, 514 (1913).
- [8] M. S. NEWMAN & A. KUTNER, J. Amer. chem. Soc. 73, 4199 (1951).
- [9] T. P. JOHNSTON, G. S. McCaleb & J. A. MONTGOMERY, J. med. Chemistry 6, 669 (1963).
- [10] CH. J. MOREL, Helv. 44, 403 (1961).
- [11] Organic Reactions 2, 251 (1944).
- [12] F. FEIGL & C. C. NETO, Analyt. Chemistry 28, 1311 (1956).
- [13] L. GATTERMANN & G. SCHMIDT, Liebigs Ann. Chem. 244, 34 (1888).
- [14] Organic Reactions 3, 382 (1946).
- [15] O. WESTPHAL & H. HOLZMANN, Chem. Ber. 75, 1274 (1942).

256. Über die Stabilitätsbereiche der Bleisalze des 2,4,6-Trinitroresorcins in wässriger Lösung

von A. DURTSCHI, W. RAUBER und F. AEBI

Gruppe für Rüstungsdienste des Eidg. Militärdepartementes
Technische Unterabteilung 6, 3602 Thun

Herrn Prof. Dr. W. FEITKNECHT zum siebzigsten Geburtstag gewidmet

(15. X. 69)

Zusammenfassung. Das 2,4,6-Trinitroresorcin (= H₂Tric) bildet ausser den bereits bekannten Bleisalzen PbTric·H₂O und Pb₂(OH)₂Tric noch die Verbindungen Pb₅(OH)₆Tric₂ und Pb₁₃O₇(OH)₈Tric₂. Diese Niederschläge wurden aus Pb(ClO₄)₂-Lösungen durch Zugabe von NaOH und Trinitroresorcin erzeugt. Die überstehenden Lösungen waren 0,2M an NaClO₄. Nach zehnmonatiger Versuchsdauer wurde in ihnen – log [Pb]_{total}, – log [Tric]_{total} und – log [H⁺] bestimmt. Daraus wurden für die Löslichkeitskonstanten

$$-\log *L_{\text{Pb}_q(\text{OH})_2(q-s)x_s} = -\log [\text{Pb}^{2+}] - s/q \log [\text{Tric}^2]^- + 2(1-s/q) \log [\text{H}^+]$$

folgende Werte bestimmt:

Bodenkörper	– log *L	Bodenkörper	– log *L
PbTric·H ₂ O	5,35 ± 0,06	Pb ₅ (OH) ₆ Tric ₂	– 1,26 ± 0,16
Pb ₂ (OH) ₂ Tric	– 0,40 ± 0,25	Pb ₁₃ O ₇ (OH) ₈ Tric ₂	– 7,96 ± 0,19
Pb ₅ (OH) ₆ Tric ₂	– 2,36	PbO·Pb(OH) ₂	– 12,33 ± 0,09

Die Werte der linken Spalte sind nur im Bereich – log [H⁺] < 8,5, die der rechten nur im Bereich – log [H⁺] > 11,0 gültig.

Aus diesen Daten wurde das Prädominanzdiagramm mit den Achsen – log [H⁺], – log [Pb]_{total} und – log [Tric]_{total} gezeichnet. Das Diagramm wird bei höheren pH-Werten durch das PbO·Pb(OH)₂ abgeschlossen.

1. Einleitung. – Vom 2,4,6-Trinitroresorcin (= H₂Tric) sind ein sogenanntes «normales» Bleisalz PbTric·H₂O und ein «basisches» Bleisalz Pb₂(OH)₂Tric bekannt. Beide Salze detonieren auf Schlag. Wegen dieser Eigenschaft werden sie als Initialsprengstoffe verwendet.