

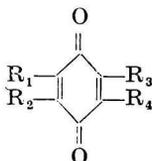
## Vergleichende Untersuchungen zur Ringspaltung von Äthyleniminochinonen durch Hydrolyse

G. HORN

*Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena,  
Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin*

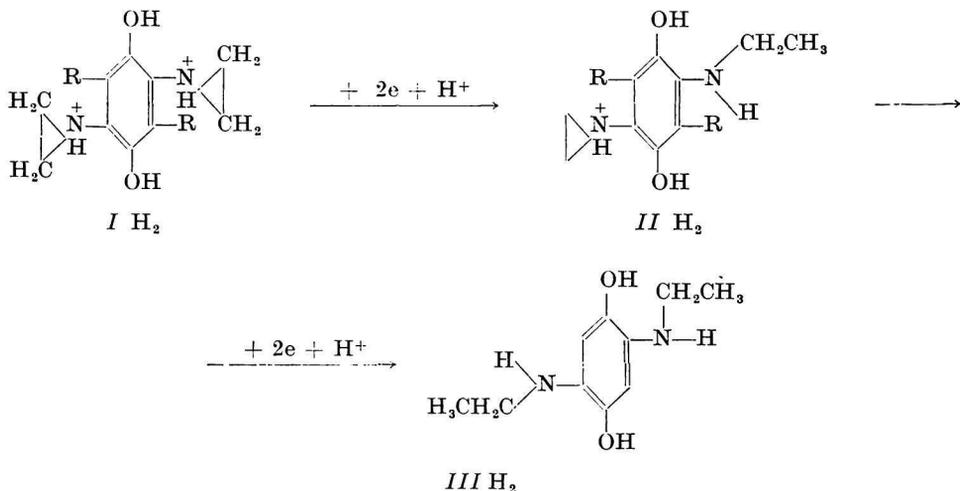
Es wurde die Hydrolyse einiger Äthyleniminochinonen in Abhängigkeit von dem pH-Wert untersucht. Der Wirkungsmechanismus dieser Cytostatika wird diskutiert.

In der Chemotherapie haben die Äthyleniminochinonen ein großes Interesse gefunden. Besonders das Bayer E 39 (2,5-Bisäthylenimino-3,6-propoxybenzochinon-1,4), welches auch klinisch zur Anwendung kommt. Im letzten Jahr wurde mit dem Trenimon (2,3,5-Trisäthylenimino-benzochinon-1,4) ebenfalls von der Firma Bayer gute Erfolge erzielt. Dieser Substanzgruppe liegt folgende Struktur zu Grunde:



$R_1$  bis  $R_4$  = Äthyleniminogruppen.

Bei dem Einsatz dieser Äthyleniminoverbindungen taucht immer wieder die Frage nach dem Wirkungsmechanismus auf. Im allgemeinen werden zwei Möglichkeiten [1, 2] diskutiert:



1. Aufspaltung der Äthyleniminoringe und gleichzeitige Blockierung funktioneller Gruppen.

2. Bildung von Wasserstoffsuperoxid aus dem in der Zelle entstandenen Hydrochinon.

Es schien daher angebracht, diesen Reaktionsmechanismus der vier Äthyleniminoverbindungen zu untersuchen. Schon an dem Bayer E 39 wurde in Jena [3, 4] oszillopolarographisch die elektrolytische, hydrolytische und photolytische Folgereaktion im neutralen und alkalischen Gebiet studiert und Reaktionsschema 1 aufgestellt.

## Experimenteller Teil

### Resultate

Nun soll die hydrolytische Spaltung der vier Äthyleniminoderivate untersucht und die Geschwindigkeit dieser Reaktionen miteinander verglichen werden. In neutralem und schwach saurem Gebiet wurde mit der klassischen Polarographie gearbeitet und ein LP 60 zur Registrierung benutzt. Im Säuren dagegen verlaufen die Reaktionen schneller und daher konnte die oszillopolarographische Methode angewandt werden. Verwendet wurde das Polaroskop Křížík P 576 mit einer strömenden Quecksilber-elektrode.

Wie bereits erwähnt, ist das Bayer E 39 [5] untersucht worden. Diese ermittelten die Geschwindigkeitskonstanten für die Hydrolyse des Bayer E 39 bei pH 7 mit  $k_1 = 0,46 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ . Dieser pH-Wert entspricht dem Milieu der Normalzelle. Für pH 6,5 fanden sie  $k_1 = 1,9 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ . Der pH-Wert entspricht dem Wert der Krebszelle. Daraus ist ersichtlich, daß Bayer E 39 im Krebsgewebe etwa viermal schneller hydrolysiert als im neutralen Medium.

Die folgenden Messungen wurden mit dem LP 60 und Standardazetatpuffer pH 4,6 durchgeführt. Die Aufspaltung der ersten Stufe ist in Abbildung 1 deutlich zu sehen. Beim Trenimon (untere Kurve) folgt aus der ersten Stufe durch Hydrolyse eine Stufe nach etwa 90 Minuten, während die erste dann bereits verschwunden ist. Die Hydrolysegeschwindigkeit für die einzelnen Derivate in Azetatpuffer und bei 20 °C sind in folgender Tabelle zusammengefaßt. Die Berechnung geschah aus der Hydrolyse in der ersten Stufe.

1. 2,60  $10^{-2} \text{ min}^{-1}$ ,
2. 0,77  $10^{-2} \text{ min}^{-1}$ ,
3. 0,11  $10^{-2} \text{ min}^{-1}$ ,
4. 0,013  $10^{-2} \text{ min}^{-1}$ .

Aus dieser Tabelle läßt sich erkennen, daß die Hydrolysegeschwindigkeit mit abnehmender Zahl der Äthyleniminogruppen ansteigt. In dieser Richtung nimmt auch die klinische Wirkung ab. Leider ist aber das Derivat mit vier Äthyleniminogruppen sehr wenig löslich, so daß aus diesem Grund eine klinische Anwendung nicht möglich ist.

Im stark sauren Gebiet verläuft diese Hydrolyse, wie bereits oben erwähnt, bedeutend schneller, so daß die oszillopolarographische Methode angewandt werden mußte. Verwendet wurde für diese Untersuchungen ein Britton—Robinson-Puffer pH 2,6. Im Oszillogramm  $dE/dt = f(E)$  äußern sich die Äthyleniminochinone durch Reduktions-

und Oxydationseinschnitte, wie aus den Abbildungen 2, 3 und 4 ersichtlich ist. Die Hydrolysegeschwindigkeit nimmt im Sauren ebenfalls mit höherer Äthyleniminoringzahl ab, wie es bereits mit der klassischen Polarographie gezeigt werden konnte. Im Oszillopolarogramm der Verbindung mit vier Äthyleniminogruppen ist auf Grund der geringen Löslichkeit kein deutlicher Einschnitt zu erkennen.

Zur Verfolgung der Hydrolyse in stark saurem Gebiet kann ebenfalls strömende Quecksilberelektrode in Verbindung mit dem Polaroskop verwendet werden. Die Registrierung muß dann aber mit einer Filmkamera erfolgen. Für das Bayer E 39 wurden diese Versuche von H. Berg und E. Bauer [6] durchgeführt.

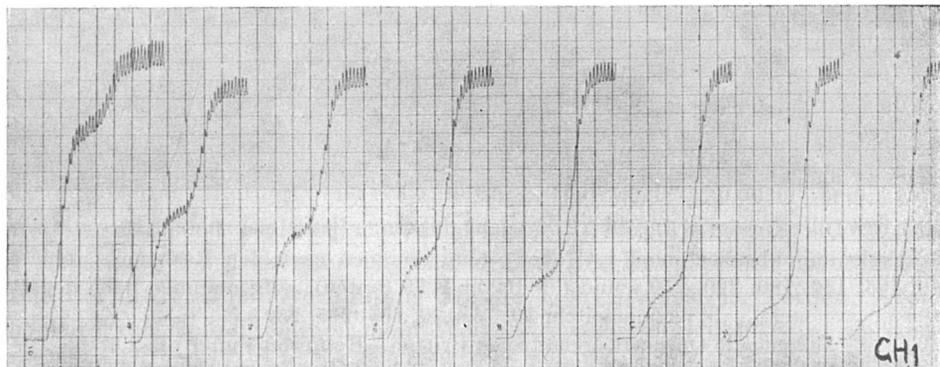


Abb. 1. Stromspannungskurven von 2-Äthylenimino-benzochinon-1,4.  $2 \cdot 10^{-4}$  M; Azetatpuffer pH 4,6; ab + 100 mV; 100 mV/cm.  $S = 1 : 30$ ; N-KCl-Elektrode. Die Aufnahme erfolgte nach 5, 10 Min. und jede weitere nach 10 Min.

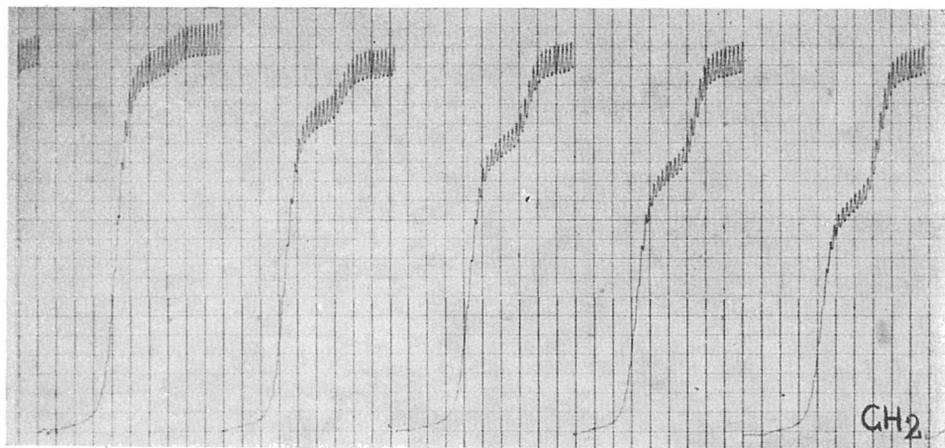


Abb. 2. Stromspannungskurven von Trenimon (2,3,5-Triäthylenimino-benzochinon-1,4).  $2 \cdot 10^{-4}$  M; Azetatpuffer; ab + 100 mV; 100 mV/cm.  $S = 1 : 30$ ; N-KCl-Elektrode. Die Aufnahme erfolgte nach 5, 10 Min. und jede weitere nach 10 Min.

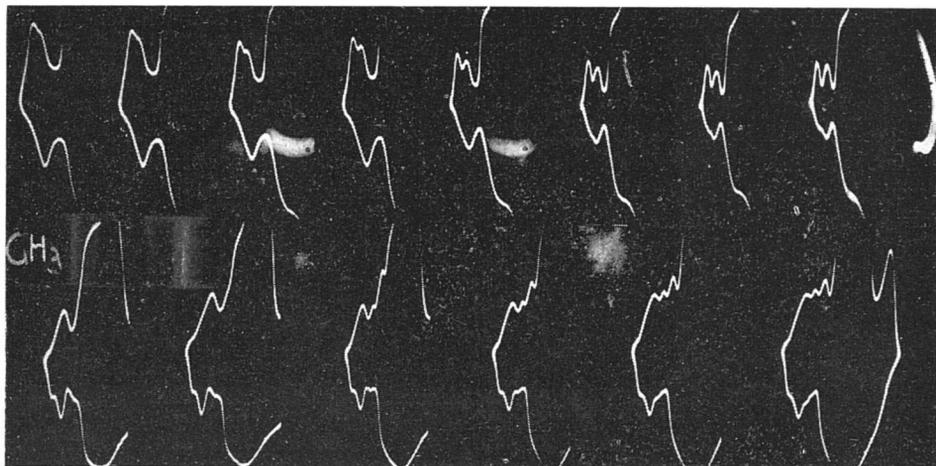


Abb. 3. Die Kurven  $dE/dt = f(E)$  (Ausschnitt vom positiven Potentialbereich) des 2-Äthylenimino-benzochinons-1,4 (oben), aufgenommen nach den Reaktionszeiten: 45, 60, 105, 150, 180, 220, 250 s und des Bayer E 39 (unten), aufgenommen nach den Reaktionszeiten: 30, 75, 120, 165, 205, 250 s.

Strömende Quecksilberelektrode; Britton—Robinson-Puffer pH 2,6.

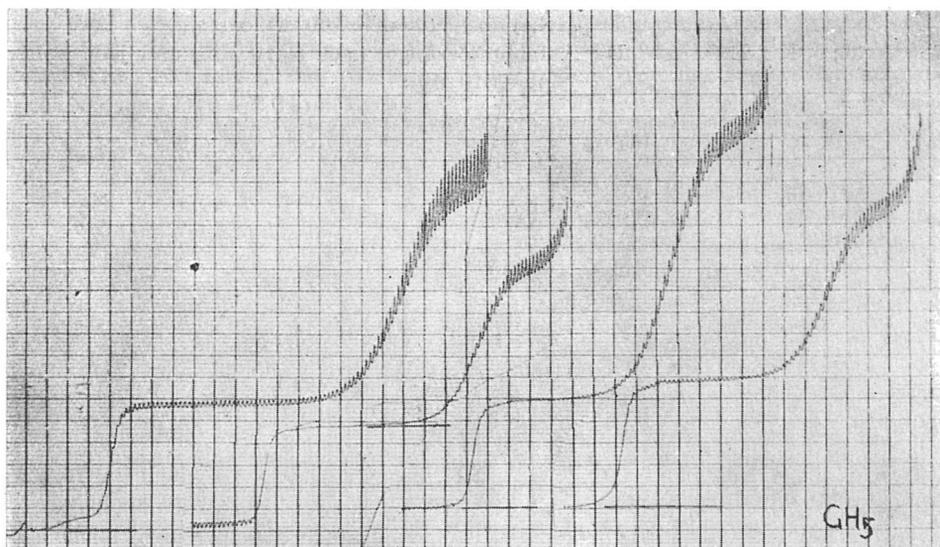


Abb. 4. Stromspannungskurven von Trenimon.

$2 \cdot 10^{-4}$  M; Phosphatpuffer pH 6,8; 20%  $C_2H_5OH$ ; 200 mV/cm;  $S = 1 \cdot 300$ ; n-KCl-Elektrode; ab 0 Volt.

- a) normale Stromspannungskurven. Entlüftet mit Wasserstoff; b) Reduktion mit Pd-Sol;  
c) Oxydation mit Luft und wieder entlüftet mit Stickstoff; d) Katalasezusatz.

### Diskussion

Wie bereits eingangs erwähnt, werden zum Wirkungsmechanismus der Äthyleniminoverbindungen zwei Möglichkeiten diskutiert: Erstens die Hydrolyse und zweitens die Bildung von Wasserstoffperoxid. Es lag auch hier nahe, mit der Polarographie die evtl. Bildung von Wasserstoffperoxid zu untersuchen. Im Organismus wird das Chinon reduziert zum Hydrochinon und dieses bildet während der Oxydation Wasserstoffperoxid. Leider weisen die Äthyleniminochinone bei dem Halbstufenpotential des Wasserstoffperoxides eine Welle auf, so daß die Stufe des Peroxides sehr schlecht zu erkennen ist. Trotzdem gelang es nach der Reduktion mit Wasserstoff und Palladiumsol, anschließender Oxydation mit Luftsauerstoff und nochmaligen Entlüften mit Stickstoff eine Erhöhung der negativen Welle festzustellen [7]. Diese Zunahme könnte auf die Bildung von Wasserstoffperoxid zurückzuführen sein. Ein Zusatz von Katalase (0,05 ml) erniedrigte die Stufenhöhe dieser Welle, wie aus der Abbildung 5 zu erkennen ist. Ein Einfluß der Katalase auf die normale Welle der Äthyleniminoverbindung konnte nicht festgestellt werden. Auch scheint es, daß vom Trenimon mehr Wasserstoffperoxid gebildet wird als vom

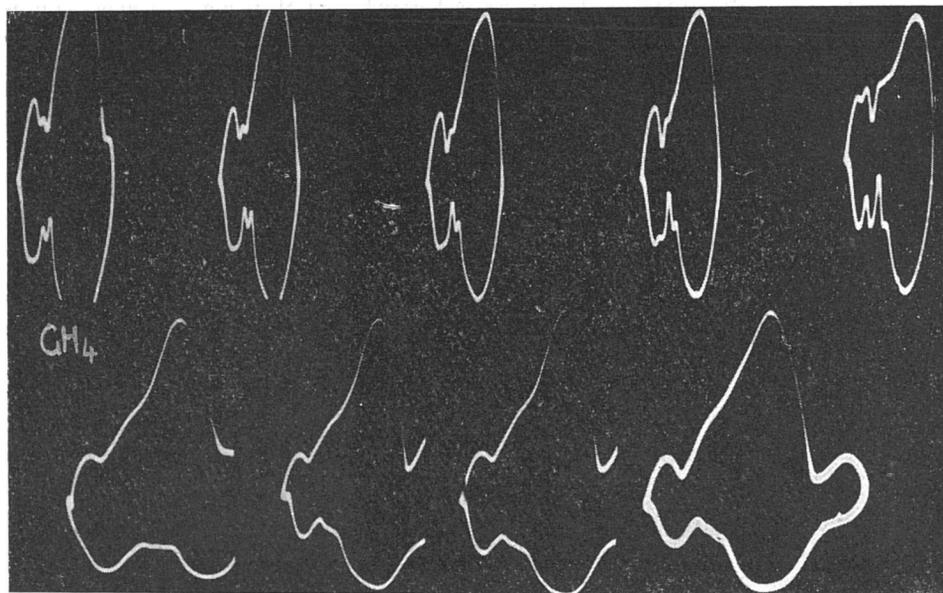


Abb. Die Kurven  $dE/dt = f(E)$  (Ausschnitt vom positiven Potentialbereich) des Trenimons (oben), Aufgenommen nach den Reaktionszeiten: 45, 105, 150, 300, 480 s und des 2,3,5,6-Tetraäthylenimino-benzochinon-1,4 (unten), nach folgenden Reaktionszeiten aufgenommen: 15, 30, 45, 60 s.

Strömende Quecksilberelektrode; Britton—Robinson-Puffer pH 2,6.

Bayer E 39. Jedoch müßten quantitative Untersuchungen hierüber durchgeführt werden.

Aus diesen Versuchen kann gefolgert werden, daß eine erhöhte Wirksamkeit bei den Äthyleniminochinonen dann auftritt, wenn die Krebszelle wesentlich saurer ist, als die Normalzelle und das Angebot an Luftsauerstoff erhöht wird, so daß eine große Menge von Wasserstoffperoxid gebildet werden kann. Die Bildung des Wasserstoffperoxides selbst ist unabhängig von der Konzentration des Chinons, da der Vorgang ideal reversibel verlaufen kann. Nach unseren Versuchen werden die beiden Forderungen des Wirkungsmechanismus vom Trenimon besser erfüllt als vom Bayer E 39.

POLAROGRAFICKÉ A OSCILOPOLAROGRAFICKÉ  
POROVNÁVACIE ŠTÚDIUM  
ŠTIEPENIA KRuhu ETYLÉNIMINOCHINÓNOV PRI ICH HYDROLÝZE

G. Horn

Ústav mikrobiológie a experimentálnej terapie, Jena,  
Nemecká akadémia vied, Berlín

Pomocou oscilopolarografie a polarografie sa sledovala hydrolyza niektorých etyléniminochinónov v závislosti od pH. Diskutuje sa o mechanizme účinku týchto látok ako kancerostatík.

СПРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
К РАСЩЕПЛЕНИЮ КОЛЕЦ ЭТИЛЕНИМИНОХИНОНОВ ГИДРОЛИЗОМ

Г Горн

Институт микробиологии и экспериментальной терапии, Йена,  
Германская академия наук, Берлин

Исследовался гидролиз некоторых этилениминохинонов в зависимости от pH. Кроме того, обсуждается механизм действия этих веществ в качестве кancerостатиков.

Preložil I. Smoleř

LITERATUR

1. Domagk G., *Naturwiss. Rundschau* **13**, 341 (1962).
2. Holzer H., Kröger H., *Biochem. Z.* **330**, 579 (1958).
3. Berg H., *Chem. zvesti* **16**, 342 (1962).
4. Anhalt A., Berg H., *J. Electroanal. Chem.* **4**, 218 (1962).
5. Berg H., Horn. G., *Naturwiss.* **50**, 356 (1963).
6. Bauer E., Berg H., *Chem. zvesti* **18**, 454 (1964).
7. Rütter J., *Hoppe-Sejler's Z. physiol. Chem.* **332**, 1 (1963).

Eingegangen am 17. September 1963