

Allantoin was isolated as the mercuric salt¹, and urea was isolated as the dioxanthidrol².

The mass spectrometer results are given in the Table for our experiment and that of BROWN *et al.*¹.

It will be seen that from a comparison of our data with those of the N-15 experiment there is markedly less incorporation of the 8-carbon than of the 1,3-nitrogens of dietary adenine into nucleic acid purines. We thus find support for our earlier hypothesis regarding the complex path, involving ring opening, followed in the incorporation of exogenous purines.

The author is indebted to Sir CHARLES HARRINGTON for his generous gift of isotopically labeled formic acid, to Prof. A. HADDOW for providing animal facilities, and to Dr. R. BENTLEY for mass Spectrometer measurements. This work was done during the tenure of a British-American exchange fellowship of the American Cancer Society and the British Empire Cancer Campaign.

M. GORDON³

Imperial College of Science and Technology, London, January 20, 1955.

Zusammenfassung

Der Einbau von oral an Ratten verabreichtem Adenin-8-C¹³ in den Purinanteil der Nukleinsäuren wurde mit den in der Literatur für die Aufnahme von Adenin-1,3-N¹⁵ beschriebenen Werten verglichen. Die wesentlich geringere Aufnahme von Adenin-8-C¹³ lässt darauf schliessen, dass der Einbau von exogenen Purinen unter Ringöffnung erfolgt.

¹ G. B. BROWN, P. M. ROLL, A. A. PLENTL, and L. F. CAVALIERI, J. Biol. Chem. 172, 469 (1953).

² O. FOSSE, Ann. Chem. 6, 13 (1916).

³ Present address: Squibb Institute for Medical Research, New Brunswick, New Jersey.

Über ein carcinostatisch wirksames Hydrochinonderivat

Vor kurzem haben DOMAGK, PETERSEN und GAUSS in der Zeitschrift für Krebsforschung über 2,5-Bis-äthylenimino-benzochinon (I) berichtet¹. Die Verbindung wirkt nach diesen Autoren auf das Wachstum des auf Ratten intramuskulär implantierten Yoshida-Sarkoms (Ascites-Form) hemmend.

Wir hatten diese Substanz schon 1½ Jahre vor der Domagkschen Publikation hergestellt und waren zu jenem Zeitpunkt bereits einen Schritt weiter gelangt, hatte sich doch nach Untersuchungen von LOUSTALOT, SCHÄR und MEIER² in unseren biologischen Laboratorien herausgestellt, dass das rot gefärbte Bis-äthylenimino-benzochinon bei peroraler Gabe³ das Wachstum von überimpfbaren Mäuse- und Rattentumoren wenig hemmte. Demgegenüber erwies sich an einem breiten Spektrum von sieben überimpfbaren Tumoren, ebenfalls bei peroraler Applikation, ein ursprünglich als Nebenprodukt gewonnenes, farbloses Hydrochinonderivat bei entsprechender Dosierung von aussergewöhnlicher Wirksamkeit².

Veranlasst durch die eingangs erwähnte Publikation sei daher über diese Substanzgruppe schon jetzt berichtet.

Das nun von DOMAGK beschriebene 2,5-Bis-äthylenimino-benzochinon (I) wird in besonders guter Ausbeute bei der Einwirkung von zwei Mol Äthylenimin auf drei Mol Benzochinon erhalten.

Anders verläuft die Reaktion, wenn auf ein oder mehr Mole Äthylenimin nur ein Mol Benzochinon verwendet wird. Anfangs bildet sich dabei nur das Chinonderivat I. Im Laufe mehrerer Stunden entsteht jedoch ein hellrötliches Kristallgemisch, in welchem man unter dem Mikroskop die orangen Rhomboeder des Chinons, nebst weisslichen, mikrokristallinen Konglomeraten erkennt. Diese schmelzen nicht bis 310° und sind unlöslich in Wasser und allen organischen Lösungsmitteln. Ihre Analyse stimmt auf 2,5-Bis-äthylenimino-hydrochinon (II).

Die neue Verbindung II ist in 2-n. Natronlauge löslich, und wird von überschüssigem Benzochinon bei 80° glatt zum Bis-äthylenimino-benzochinon (I) oxydiert. Umgekehrt lässt sie sich aus dem Chinon I durch Hydrierung gewinnen.

Weitere Untersuchungen legten jedoch die Vermutung nahe, dass das 2,5-Bisäthylenimino-hydrochinon nicht als solches, sondern als *inneres Salz III* vorliegt. Diese Annahme wird durch das IR.-Spektrum bestätigt: eine C=O- oder eine OH-Bande fehlt völlig, dafür treten bei 3,67 und 3,88 μ Absorptionen auf, die auf Ladungsverschiebungen hindeuten. Vermutlich ist aber dieses innere Salz III nicht monomer ($x = 1$), sondern bildet eine Art Ionengitter, in dem zwei oder mehrere Hydrochinonkerne intermolekular ihre Protonen ausgetauscht haben, so dass der Sauerstoff der einen Molekel dem Stickstoff einer zweiten gegenüber liegt und so fort. In der Formel III könnte x daher einen hohen Wert haben.

Das Auftreten eines solchen Hydrochinons in der Form eines inneren Salzes und seine Tumorstärke waren so bemerkenswert, dass eine weitere chemische Bearbeitung angezeigt schien.

Zunächst war es möglich, die Reaktion so zu leiten, dass nur das Hydrochinon III, nicht aber Bis-äthylenimino-benzochinon (I) entstand.

Dann wurde die Frage abgeklärt, ob bisher bei der Darstellung von Aminochinonen bei uns und anderwärts¹ das Auftreten von Aminohydrochinonen übersehen worden wäre. Dazu wurde die Reaktion zwischen Benzochinon und Piperidin bzw. Benzochinon und Pyrrolidin herangezogen. Im ersteren Fall isolierten wir nur die bereits bekannten, permanganatfarbigen Prismen des 2,5-Bis-piperidino-benzochinons (IV)². Einzig bei Anwendung eines grossen Überschusses an Piperidin liess sich neben viel harzigen Produkten eine sehr geringe Menge des weissen, schwer löslichen 2,5-Bis-piperidino-hydrochinons (V) gewinnen. Bei der Reaktion von Benzochinon und Pyrrolidin konnte hingegen überhaupt kein Hydrochinon VII entdeckt werden; es entstanden nur die karminroten Platten des 2,5-Bis-pyrrolidino-benzochinons VI. Trimethylenimin lieferte ebenfalls nur ein Chinon, das in violetten Prismen kristallisierende 2,5-Bis-trimethylenimino-benzochinon. Demnach verläuft die Reaktion mit den höheren Homologen des Äthylenimins ganz verschieden von derjenigen mit Äthylenimin selbst.

Aus diesen Chinonen durch Reduktion erhaltene Hydrochinone, nämlich das erwähnte 2,5-Bis-piperidino-hydrochinon (V) und das 2,5-Bis-pyrrolidino-

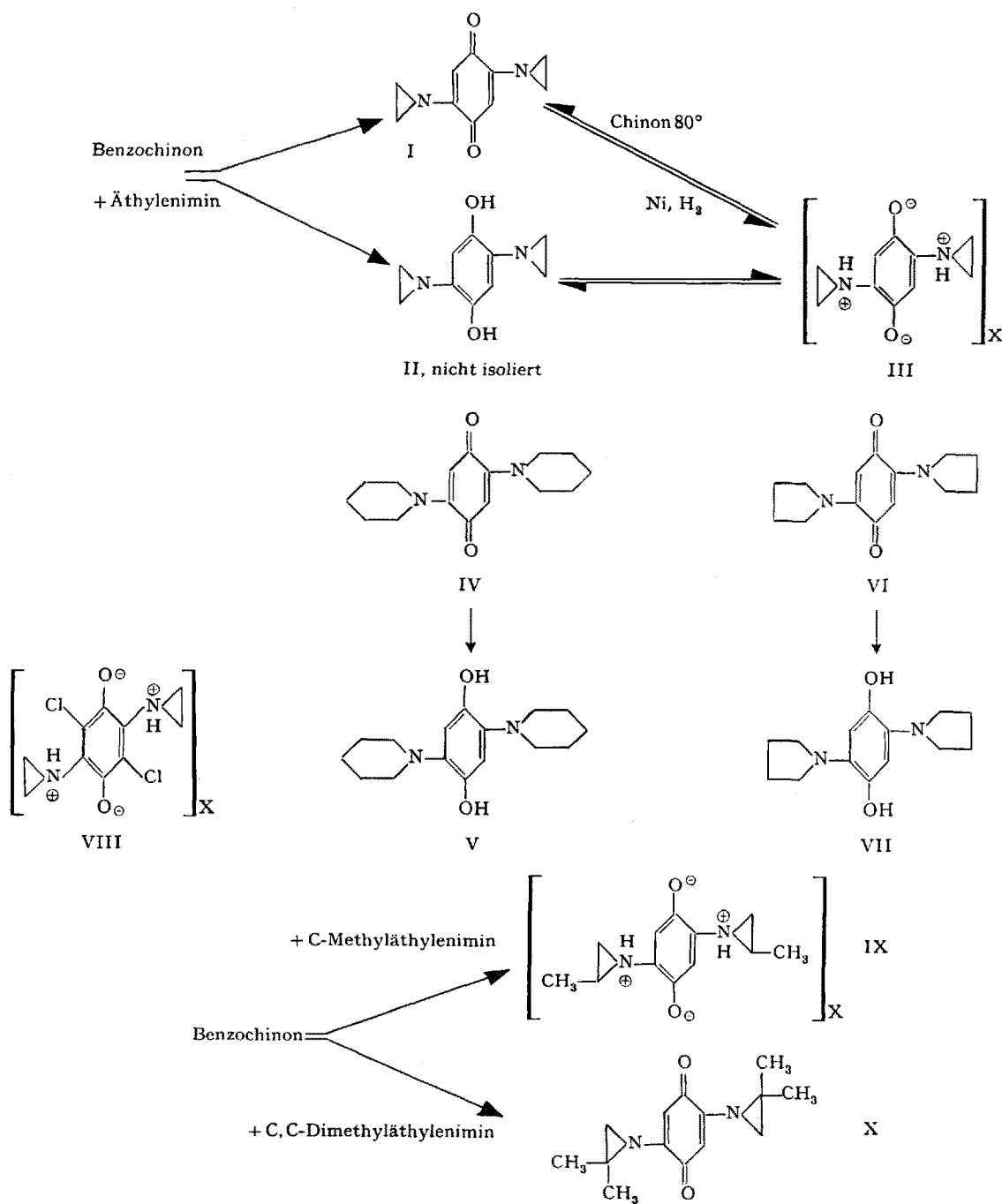
¹ G. DOMAGK, S. PETERSEN und W. GAUSS, Z. Krebsforschung 59, 617 (1954).

² P. LOUSTALOT, B. SCHÄR und R. MEIER, vgl. die nachfolgende Arbeit, Exper. 11, 186 (1955).

³ Die Verbindung ist in Wasser schwer löslich.

¹ Vgl. die Zusammenfassung bei M. MARTYNOFF und G. TSATSAS, Bull. Soc. Chim. Fr. 14, 52 (1947), und C. J. CAVALLITO, A. E. SORIA und J. O. HOPPE, J. Amer. Chem. Soc. 72, 2661 (1950).

² B. LACHOWICZ, Mh. Chem. 9, 506 (1888).



hydrochinon (VII), erwiesen sich in ihren Eigenschaften interessanterweise recht verschieden vom 2,5-Bis-äthylenimino-hydrochinon III; waren sie doch im Gegensatz zu diesem in Natronlauge beinahe unlöslich. Dafür wurden stabile Dihydrochloride erhalten. Ferner haben beide Verbindungen einen definierten Schmelzpunkt. Schliesslich sind sie, im Gegensatz zu III, wie alle o-Aminophenole, an der Luft leicht oxydierbar. Die letztgenannten Unterschiede lassen sich am ehesten durch das Ausbleiben einer inneren Salzbildung erklären. Die IR.-Spektren bestätigen diese Annahmen.

All diese Befunde legen den Schluss nahe, dass dem 2,5-Bis-äthylenimino-hydrochinon in der Tat *chemisch und biologisch eine Sonderstellung zukommt*, indem die Existenz seines inneren Salzes eng mit der Äthylen-

iminstruktur verknüpft scheint, ist doch von keinem Aminophenol die Bildung eines inneren Salzes bekannt¹.

Die gleiche innere Salzbildung lässt sich auch beim 2,5-Dichlor-3,6-bis-äthylenimino-hydrochinon VIII erkennen.

Von grösstem Interesse waren in diesem Zusammenhang Untersuchungen mit C-Methyl-äthylenimin und C,C-Dimethyl-äthylenimin. Ersteres ergab bei der Umsetzung mit Benzochinon das *innere Salz* des 2,5-Bis-(C-methyl-äthylenimino)-hydrochinons (IX), während letzteres mit den gleichen Mengenverhältnissen nur das 2,5-Bis-(C, C-dimethyl-äthylenimino)-benzochinon (X) lieferte¹.

¹ Für die Interpretation dieser Befunde vgl. die ausführlichere Mitteilung in den *Helv. chim. Acta*.

So ist anscheinend bei der Bildung farbloser, innerer Hydrochinonsalze vom Typus III, VIII und IX das Äthylenimin sowie das C-Methyl-äthylenimin besonders bevorzugt.

Für die Aufnahme und Diskussion der IR.-Spektren sei Herrn Dr. E. GANZ gedankt.

A. MARXER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel, den 21. Februar 1955.

Summary

The reaction between benzoquinone and two or more mols ethylenimine yields a white insoluble compound which is the internal salt of 2,5-bis-ethylenimino-hydroquinone, an unusual formation not yet described in the literature. C-Methyl-ethylenimine forms a similar hydroquinone salt, whilst other cyclic or non cyclic amines, such as piperidine, pyrrolidine, trimethylenimine, dimethylamine and C,C-dimethyl-ethylenimine give 2,5-disubstituted benzoquinones. According to the findings of LOUSTALOT, SCHÄR and MEIER 2,5-Bis-ethylenimino-hydroquinone has proved to be of remarkable efficacy in seven kinds of transplantable tumors. It would seem, therefore, that this compound has, both chemically and biologically, interesting qualities.

Über antimitotische und tumorhemmende Eigenschaften des inneren Salzes des 2,5-Bis-Äthylenimino-hydrochinons

Unter den tumorhemmenden Stoffen finden sich verschiedene Substanzgruppen mit chemisch hoch reaktionsfähigen Substituenten. Einzelne dieser Stoffe besitzen therapeutische Wirkungen. Ihre Anwendung ist aber durch die ungenügende Spezifität der Wirkung erschwert. Die folgende Mitteilung gibt ein Beispiel dafür, dass in einer Gruppe solcher Verbindungen, bei systematischer Abwandlung, ein Vertreter gefunden werden kann, bei dem eine breite tumorhemmende Wirkung mit besonderer Beschränkung auf das bösartige Gewebe vorhanden ist. Im vorliegenden Falle handelt es sich um das von MARXER¹ synthetisierte innere Salz des 2,5-Bis-Äthylenimino-hydrochinons.

Unter den Chinonen sind am Tubifex-Ei mitosehemmende Vertreter von LEHMANN² beschrieben worden. Untersuchungen von MEIER und Mitarbeitern³ und später von FRIEDMANN und Mitarbeitern⁴ haben gezeigt, dass zahlreiche Chinone und Hydrochinone die Zellteilung von *in vitro* gezüchteten Fibroblasten des höheren Tieres hemmen. Tumorhemmung am Tier durch

verschiedene Chinonderivate wurde von BADGER und Mitarbeitern¹, POWELL² und andern beschrieben. Die mitose- und tumorhemmende Wirkung von Äthyleniminverbindungen ist besonders für das Triäthylenmelamin bekannt. Ein Chinon, das zusätzliche reaktive Gruppen trägt, ist bisher nur von DOMAGK und Mitarbeitern³ beschrieben worden. Seine Wirkung ist auch nach unseren eigenen Befunden gering. Um so bemerkenswerter ist es, dass die oben genannte Verbindung eine ungewöhnlich starke und breite tumorhemmende Wirkung besitzt:

Das innere Salz des 2,5-Bis-Äthylenimino-hydrochinons bedingt in einer Konzentration von etwa 10^{-6} bis 10^{-7} bei *in vitro* gezüchteten Hühnergefäßfibroblasten und Lungenepithelien nach 8 h Störungen des Mitoseablaufes, die sich von denjenigen, verursacht durch einfach gebaute Hydrochinone, unterscheiden. Weitere Untersuchungen haben ergeben, dass ihm auch eine Wirkung auf den Nucleolus des Ruhezellkernes zukommt. Ähnliche Effekte finden sich bei Triäthylenmelamin. Die Wirksamkeit der vorliegenden Verbindung ist wesentlich höher. Dem untersuchten Hydrochinonderivat kommt somit eine vielgestaltige Wirkung auf *in vitro* proliferierende Zellen zu.

Bei einer akuten peroralen Toxizität von 150 mg/kg zeigt das Präparat bei etwa halbletalen peroralen Dosen, die während 6tägiger Verabreichung eben noch toleriert werden, eine Hemmung des Wachstums eines breiten Tumorspektrums (Methode: SCHÄR und Mitarbeiter⁴). Folgende überimpfbare Mäuse- und Rattentumoren werden um 25–75% und mehr in ihrem Wachstum gehemmt: Crocker-Sarcom 180, Ehrlich-Carcinom, Adeno-Carcinom EO 771, Adeno-Carcinom Ciba, Osteogenes Sarcom Ciba, Walker-Carcinosarcom 256, Flexner-Joblin-Carcinom. Das Wachstum des Walker-Carcinosarcom 256 wird fast vollständig gehemmt. Die tägliche perorale Behandlung während 27 Tagen mit 30 mg/kg von Ratten mit dem Walker-Carcinosarkom 256 beimpft, verursacht bei einer rund 50%igen Hemmung des Wachstums schwere histologisch nachweisbare Schädigungen des Tumorgewebes (Abb. 1). Die tumorhemmende Wirkung des untersuchten Hydrochinonderivates ist unter bestimmten Versuchsanordnungen im histologischen Befund auffallend spezifisch, da stark proliferierende, normale Gewebe praktisch keine Läsionen zeigen (Abb. 2).

P. LOUSTALOT, B. SCHÄR und R. MEIER

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, den 24. März 1955.

Summary

A new hydroquinone compound, the internal salt of 2,5-bis-ethylenimino-hydroquinone, has a multiform antimitotic effect and a potent tumor-inhibiting action on a wide spectrum of inoculated tumors of mice and rats. On the other hand, normal tissues undergoing intensive cell division do not appear to be affected adversely from the histological standpoint.

¹ A. MARXER, Exper. 11, 184 (1955).

² F. E. LEHMANN, Verh. Schweiz. Physiol. 1942. – F. E. LEHMANN und H. HADORN, Helv. physiol. pharm. Acta 4, 11 (1946).

³ R. MEIER und M. ALLGÖWER, Exper. 1, 57 (1945). – R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 3, 358 (1947).

⁴ E. FRIEDMANN, D. H. MARRIAN und I. SIMON-REUSS, Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy 3, 263 (1948).

¹ G. M. BADGER, L. S. ELSON, A. HADDOW, C. L. HEWETT und A. M. ROBINSON, Proc. Roy. Soc. [B] 130, 255 (1941).

² A. K. POWELL, Brit. J. Cancer 5, 264 (1951).

³ G. DOMAGK, S. PETERSEN und W. GAUSS, Z. Krebsforschung 59, 617 (1954).

⁴ B. SCHÄR, P. LOUSTALOT und F. GROSS, Klin. Wschr. 32, 49 (1954).