

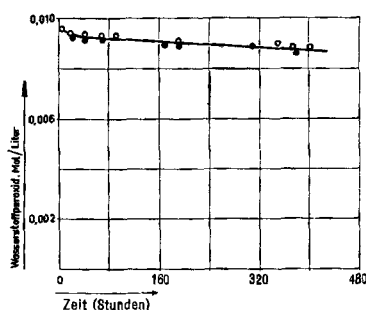
210. Die Auslösung von FENTON-Reaktionen durch cytotoxische Methylhydrazin-Verbindungen

von K. Berneis, M. Kofler und W. Bollag

(27. VIII. 64)

In einer früheren Mitteilung wurde darauf hingewiesen, dass cytotoxische Methylhydrazin-Verbindungen, welche als Folge ihrer Autoxydation Wasserstoffperoxid liefern, bei Gegenwart von Schwermetallkomplexbildnern wie Desferrioxamin B [1]¹⁾ einen stärkeren Viskositätsabfall von Desoxyribonucleinsäure-Lösungen bewirkten als die äquimolare Menge Wasserstoffperoxid. Durch die im folgenden wiedergegebenen Versuchsergebnisse wird nachgewiesen, dass die erwähnten Methylhydrazinverbindungen Reaktionen zwischen Wasserstoffperoxid und organischen Verbindungen auslösen können. Mittels analytischer Ultrazentrifugierung wird gezeigt, dass als Folge solcher Reaktionen eine Fragmentierung von Nucleinsäuren stattfinden kann.

1. Die Auslösung von Reaktionen zwischen Wasserstoffperoxid und Desoxyribose durch eine cytotoxische Methylhydrazinverbindung. Fig. 1 zeigt die zeitliche Verände-



Figur 1. Stabilität von Wasserstoffperoxid in Lösung mit Zusatz von Desoxyribose und in Lösung ohne diesen Zusatz

(1/15 M Phosphatpuffer pH 7, 0,002 Mol/l Na-Pyrophosphat enthaltend; 37,0°)

Kreise: ca. 0,01 Mol/l Wasserstoffperoxid allein

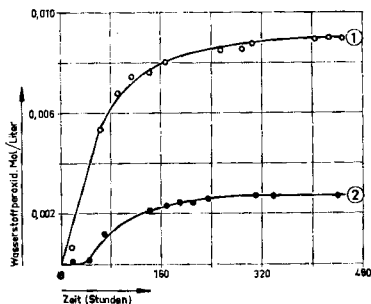
Punkte: ca. 0,01 Mol/l Wasserstoffperoxid und 0,03 Mol/l Desoxyribose

rung des Wasserstoffperoxidgehaltes einer zu Versuchsbeginn ungefähr 0,01M Wasserstoffperoxidlösung. Der Figur ist zu entnehmen, dass durch Zusatz von 0,03 Mol/l Desoxyribose die Stabilität des Wasserstoffperoxids nicht beeinflusst wird. Es findet somit praktisch keine Reaktion zwischen Wasserstoffperoxid und Desoxyribose statt.

Hingegen wird die Wasserstoffperoxidausbeute bei der Autoxydation von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat wesentlich vermindert, wenn diese bei Gegenwart von Desoxyribose erfolgt. Die entsprechenden Versuchsergebnisse sind in Fig. 2 graphisch dargestellt. Durch Bestimmung des bei der Autoxydation gebildeten Benzaldehyds [2] kann gezeigt werden, dass die Autoxydation der Methylhydrazinverbin-

¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 1910.

dung durch Desoxyribose nicht inhibiert wird. Die Verminderung der Wasserstoffperoxid-Ausbeute ist daher auf einen teilweisen Verbrauch des bei der Autoxydation gebildeten Wasserstoffperoxids durch Desoxyribose zurückzuführen. Die Reaktivität von Wasserstoffperoxid gegenüber Desoxyribose wird somit durch die Methylhydrazinverbindung gesteigert.



Figur 2. Einfluss von Desoxyribose auf die Wasserstoffperoxid-Ausbeute bei der Autoxydation von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat

(1/15M Phosphatpuffer pH 7 mit Zusatz von 0,002 Mol/l Na-Pyrophosphat; 37,0°)

① 0,01 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat allein

② 0,01 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat und 0,03 Mol/l Desoxyribose

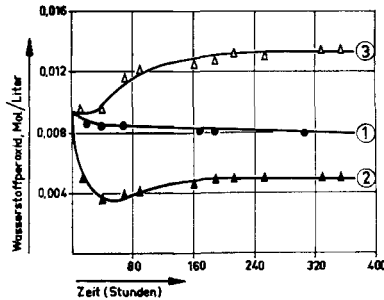
Falls die als Zwischenprodukte der Autoxydation angenommenen HOO-Radikale mit Desoxyribose reagieren würden, so sollte dies keine Verminderung, sondern vielmehr eine Vermehrung der Wasserstoffperoxid-Ausbeute zur Folge haben. Es kann gezeigt werden, dass durch Verbindungen, welche mit Hydroperoxy-Radikalen reagieren, wie z. B. Propylgallat, 1-Phtalazinylhydrazin und 1,2-Dihydro-6-äthoxy-2,2,4-trimethyl-chinolin (Santoquin®), eine Steigerung der Wasserstoffperoxid-Ausbeute bewirkt wird (vgl. auch [2], [3]). Eine Verminderung der Wasserstoffperoxid-Ausbeute wird ausser durch Desoxyribose auch durch Äthylalkohol sowie durch 2-Methylbutanol verursacht. Bekanntlich reagieren aliphatische Alkohole nicht mit HOO-Radikalen, sondern bloss mit HO-Radikalen [3]. Auch die Beobachtung, dass Katalase den Abbau von Desoxyribonucleinsäure durch cytotoxische Methylhydrazinverbindungen vollständig unterdrückt (vgl. [2]), spricht dafür, dass der Angriff auf Desoxyribose über die intermediäre Bildung von Wasserstoffperoxid erfolgt.

Aus den in Fig. 3 wiedergegebenen Versuchsergebnissen geht klar hervor, dass durch die Methylhydrazinverbindung die Umsetzung zwischen Wasserstoffperoxid und Desoxyribose eingeleitet wird. Kurve 1 zeigt wiederum die Stabilität von Wasserstoffperoxid bei Gegenwart von Desoxyribose. Kurve 2 lässt erkennen, dass nach Zusatz von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin ein rascher Verbrauch des bereits in der Mischung befindlichen Wasserstoffperoxids beginnt²⁾. Der leichte Anstieg der Kurve nach ungefähr 60 Stunden ist auf die Wasserstoffperoxidbildung durch die Methylhydrazinverbindung zurückzuführen. Dass dieser starke Wasserstoffperoxid-Verbrauch nicht nur auf die Reaktion zwischen Wasserstoffperoxid und der Methylhydrazinverbindung zurückzuführen ist, sondern in erster Linie auf Umsetzung zwischen Wasserstoffperoxid und Desoxyribose, geht aus dem Verlauf der Kurve 3 hervor. Kurve 3 zeigt nämlich, dass ein starker Anstieg des Wasserstoffperoxidgehaltes der Lösung stattfindet, wenn Desoxyribose in der Lösung fehlt und nur Wasserstoffperoxid und die Methylhydrazinverbindung zusammengebracht werden.

²⁾ Auch unter anaeroben Versuchsbedingungen wird die Reaktion zwischen Wasserstoffperoxid und Desoxyribose durch die Methylhydrazinverbindung ausgelöst.

Die bei den beschriebenen Versuchen verwendete Desoxyribose enthielt nur je 3 ppm. Kupfer und Eisen, wie mittels Spektralanalyse gezeigt werden konnte.

2. *Fragmentierung von Desoxyribonucleinsäure: Unterschiede zwischen Wasserstoffperoxid und 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin.* Gemäss Literaturangaben [4] findet in Lö-



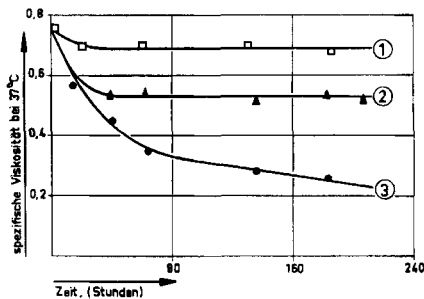
Figur 3. Die Auslösung des Umsatzes zwischen Wasserstoffperoxid und Desoxyribose durch 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat

(1/15M Phosphatpuffer pH 7 mit Zusatz von 0,002 Mol/l Na-Pyrophosphat; 37,0°)

- ① 0,01 Mol/l Wasserstoffperoxid und, 0,03 Mol/l Desoxyribose
- ② 0,01 Mol/l Wasserstoffperoxid, 0,03 Mol/l Desoxyribose und 0,01 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat
- ③ 0,01 Mol/l Wasserstoffperoxid und 0,01 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat

sungen mit sehr geringem Gehalt an Eisen praktisch kein Abbau von Desoxyribonucleinsäure durch Wasserstoffperoxid statt. Die Reaktion zwischen Wasserstoffperoxid und Desoxyribonucleinsäure kann aber auch in solchen Lösungen durch Zusatz eines Reduktionsmittels, wie z. B. Ascorbinsäure, ausgelöst werden [4].

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden mit einer 0,05-proz. wässrigen Lösung³⁾ von Natrium-desoxyribonucleinat (DNS) durchgeführt. Im Gegensatz zu



Figur 4. Der unterschiedliche Effekt von Wasserstoffperoxid und von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat auf die Viskosität einer DNS-Lösung (die Lösung enthält 0,002 Mol/l Na-Pyrophosphat)

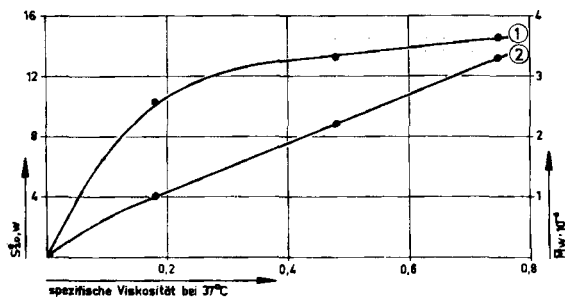
- ① DNS-Lösung ohne Zusatz
- ② Mit Zusatz von 0,0005 Mol/l Wasserstoffperoxid
- ③ Mit Zusatz von 0,0005 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat

³⁾ Zur Stabilisierung gegen Denaturierung enthielt die Natriumdesoxyribonucleinat-Lösung 10% Kochsalz, vgl. [5]. Ausserdem wurde 1/30 Mol/l Phosphatpuffer pH 7 zugesetzt.

den früher beschriebenen Versuchen [1] wurden der Lösung 0,002 Mol/l Natrium-pyrophosphat⁴⁾ zur Bindung von Eisen-Ionen⁵⁾ zugesetzt. Fig. 4 zeigt die Wirkung von 0,0005 Mol/l Wasserstoffperoxid (Kurve 2) sowie von 0,0005 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat (Kurve 3) auf die spezifische Viskosität dieser Lösung. Dem Kurvenverlauf, welcher den zeitlichen Gang der spezifischen Viskosität wiedergibt, ist zu entnehmen, dass das Methylhydrazinderivat die Viskosität der Lösung wesentlich mehr vermindert als die äquimolare Menge⁶⁾ Wasserstoffperoxid.

Die Bildung von Wasserstoffperoxid bei der Autoxydation einer Verbindung bedeutet nicht *a priori*, dass diese Verbindung Desoxyribonucleinsäure abbaut. 1-Phthalazinyldiazin zum Beispiel liefert in wässriger Lösung als Folge von Autoxydation Wasserstoffperoxid in ähnlicher molarer Ausbeute wie 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin. Trotzdem bewirkt 1-Phthalazinyldiazin in Lösung keinen Abbau von Desoxyribonucleinsäure, sondern schützt diese sogar vor dem Abbau durch Wasserstoffperoxid. – Vgl. in diesem Zusammenhang FALLAB & ERLIENMEYER [3].

Um festzustellen, ob die Viskositätsvermindierungen auf einen Abbau der DNS zurückzuführen sind, wurden der DNS-Lösung wechselnde Mengen des Methylhydrazinderivates zugesetzt und nach Erreichung stationärer Viskositätswerte die Sedimentationskonstanten bestimmt. In Fig. 5 sind die auf die Konzentration null



Figur 5. Beziehung zwischen Sedimentationskonstante und spezifischer Viskosität sowie zwischen mittlerem Molekulargewicht und spezifischer Viskosität von DNS

- ① Sedimentationskonstante als Funktion der spezifischen Viskosität
 ② Mittleres Molekulargewicht als Funktion der spezifischen Viskosität

extrapolierten und auf Standardbasis umgerechneten Sedimentationskonstanten dieser Lösungen als Funktion der spezifischen Viskosität wiedergegeben⁷⁾ (Kurve 1). Der Kurvenverlauf lässt eine deutliche Verminderung der Sedimentationskonstanten mit sinkender Viskosität der Lösungen erkennen.

Diese Sedimentationskonstanten wurden nun unter Verwendung der von DOTY *et al.* [7] mitgeteilten Beziehung zwischen der Sedimentationskonstanten und dem mittleren Molekulargewicht von fragmentierter Desoxyribonucleinsäure⁸⁾ in mittlere

⁴⁾ $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 + 10\text{H}_2\text{O}$ pro analysi von MERCK, Darmstadt.

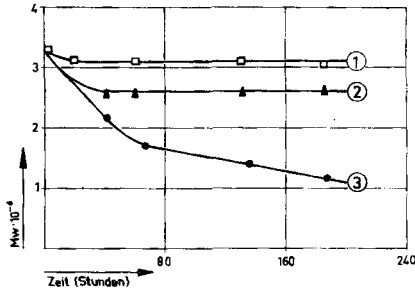
⁵⁾ Das bei den hier beschriebenen Versuchen verwendete Natrium-desoxyribonucleinat ist eisenhaltig, siehe exper. Teil. – Über die Fällung bzw. komplexe Bindung von Eisen-Ionen vgl. [6].

⁶⁾ Bei der Autoxydation des erwähnten Hydrazinderivates wird höchstens die äquimolare Menge Wasserstoffperoxid gebildet; vgl. [2].

⁷⁾ Die gleiche Beziehung zwischen der Sedimentationskonstanten und der spezifischen Viskosität wurde beim Abbau der DNS mit Wasserstoffperoxid erhalten.

⁸⁾ Bei der von DOTY *et al.* [7] verwendeten Methodik zur Fragmentierung der DNS erfolgt keine Zerstörung der Doppelhelixstruktur, was auch auf unsere Versuche zutrifft; vgl. [2].

Molekulargewichte umgerechnet und in dasselbe Diagramm eingezeichnet (Kurve 2). Diese Beziehung zwischen mittlerem Molekulargewicht und spezifischer Viskosität diente zur Umrechnung der in Fig. 4 wiedergegebenen Viskositätswerte in Molekulargewichte. Der so ermittelte «zeitliche Gang des mittleren Molekulargewichtes» der DNS ist in Fig. 6 graphisch dargestellt. 0,0005 Mol/l der Methylhydrazinverbindung



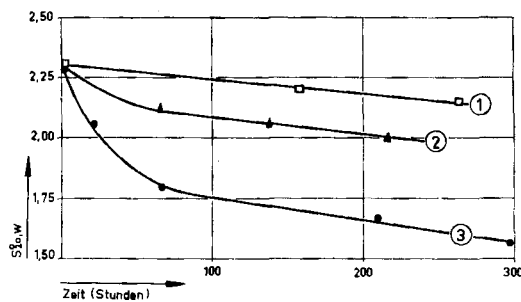
Figur 6

Der unterschiedliche Effekt von Wasserstoffperoxid und von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat auf das mittlere Molekulargewicht von DNS (die Lösung enthält 0,002 Mol/l Na-Pyrophosphat)

- ① DNS-Lösung ohne Zusatz
- ② Mit Zusatz von 0,0005 Mol/l Wasserstoffperoxid
- ③ Mit Zusatz von 0,0005 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat

vermindern demnach innerhalb von 190 Stunden das mittlere Molekulargewicht der DNS von 3,3 auf 1,2 Millionen (Kurve 3), die äquimolare Menge Wasserstoffperoxid hingegen nur auf 2,6 Millionen (Kurve 2). Bei der Kontrolle findet nur am Anfang ein leichter Abfall des mittleren Molekulargewichtes statt (Kurve 1).

3. *Fragmentierung von löslicher Ribonucleinsäure.* Mit den im folgenden wiedergegebenen Versuchen sollte festgestellt werden, ob auch im Falle einer niedermolekularen Nucleinsäure ein Abbau durch das erwähnte Methylhydrazinderivat nachgewiesen werden kann. Als Versuchsmodell wurde eine im Handel erhältliche lösliche Ribonucleinsäure⁹⁾ (s-RNS) verwendet. Diese zeichnete sich durch einen sehr nied-



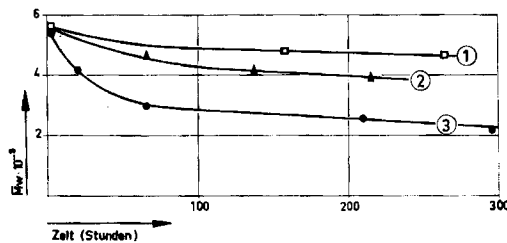
Figur 7. Einfluss von Wasserstoffperoxid sowie von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat auf die Sedimentationskonstante von s-RNS

- ① s-RNS-Lösung ohne Zusatz
- ② Mit Zusatz von 0,01 Mol/l Wasserstoffperoxid
- ③ Mit Zusatz von 0,01 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat

⁹⁾ Lösliche Ribonucleinsäure (s-RNS) aus Kalbsleber, geliefert von der Firma FLUKA in Buchs.

rigen Eisengehalt aus, so dass auf den Zusatz eines Komplexbildners für Eisen verzichtet werden konnte. Für die Abbaubersuche wurden 1-proz. Lösungen in 0,2M Phosphatpuffer pH 7 mit 0,01 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat oder mit der äquimolaren Menge Wasserstoffperoxid versetzt.

Der Abbau der Ribonucleinsäure wurde durch Bestimmung der Sedimentationskonstanten verfolgt. In Fig. 7 sind die auf Konzentration limes null extrapolierten und auf Standardbedingungen umgerechneten Werte der Sedimentationskonstanten als Funktion der Reaktionszeit graphisch dargestellt. Die Methylhydrazinverbindung bewirkt demnach eine bedeutend stärkere Verminderung der Sedimentationskonstanten als die äquimolare Menge Wasserstoffperoxid. Die Sedimentationskonstanten wurden wiederum in mittlere Molekulargewichte umgerechnet [8], wobei das von LUBORSKY & CANTONI [9] vorgeschlagene Strukturmodell für s-RNS zugrunde gelegt wurde. In Fig. 8 ist der so ermittelte zeitliche Gang des Molekulargewichtes der s-RNS



Figur 8. Einfluss von Wasserstoffperoxid sowie von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat auf das mittlere Molekulargewicht von s-RNS

- ① s-RNS-Lösung ohne Zusatz
- ② Mit Zusatz von 0,01 Mol/l Wasserstoffperoxid
- ③ Mit Zusatz von 0,01 Mol/l 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin-phosphat

graphisch dargestellt. Dieser Darstellung ist zu entnehmen, dass das Methylhydrazin-derivat innerhalb von 70 Stunden einen Abfall des mittleren Molekulargewichtes von 5800 auf rund die Hälfte bewirkt, während Wasserstoffperoxid nur eine Molekulargewichtsverminderung um ungefähr einen Sechstel verursacht.

Demnach kann bei Verwendung eines Nucleinsäurepräparates mit niedrigem Eisengehalt auch ohne Zusatz eines Komplexbildners für Eisen der Unterschied zwischen der abbauenden Wirkung von 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin und Wasserstoffperoxid demonstriert werden.

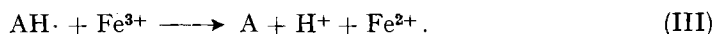
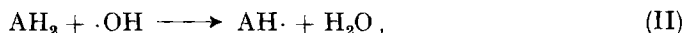
Diskussion. – Die Versuchsergebnisse¹⁰⁾ zeigen, dass cytotoxische Methylhydrazinverbindungen nicht nur Wasserstoffperoxid bilden, sondern dass sie auch Reaktionen zwischen Wasserstoffperoxid und organischen Verbindungen einleiten können. Es scheint naheliegend, den letzteren Effekt mit dem bekannten Mechanismus von FENTON-Reaktionen zu erklären.

Während Eisen(III)-Ionen Wasserstoffperoxid unter Sauerstoffentwicklung ohne die Bildung oxydierend wirkender Zwischenprodukte zersetzen [10], führt die Umsetzung zwischen Eisen(II)-Ionen und Wasserstoffperoxid zu den stark oxydierend wirkenden OH-Radikalen [11]:



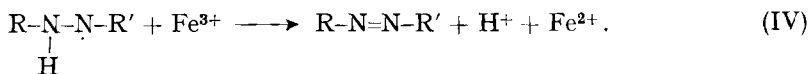
¹⁰⁾ Siehe auch [1] und [2].

Bei Gegenwart von organischen Verbindungen, welche mit OH-Radikalen reagieren, werden die Eisen(II)-Ionen regeneriert [12] (AH_2 = organische Verbindungen, AH = das durch Abstraktion eines H-Atoms gebildete freie Radikal):



Die Reaktionen I bis III stellen zusammen eine FENTON-Reaktionskette dar.

Den obigen Ausführungen ist zu entnehmen, dass der Start der FENTON-Kettenreaktion durch die *reduzierte* Form des Schwermetall-Ions [12] erfolgt. Daher können FENTON-Reaktionen durch Reduktionsmittel eingeleitet werden [4, 12], wobei nur Spuren von Schwermetall-Ionen benötigt werden¹¹⁾. 1-Methyl-2-benzyl-hydrazin, mit welchem die hier beschriebenen Versuche durchgeführt wurden, reduziert im neutralen und im schwach sauren pH-Bereich Eisen(III)-Ionen zur Eisen(II)-Stufe¹²⁾. Noch stärker ist das Reduktionsvermögen von Methylhydrazin¹³⁾, welches durch Folgereaktionen nach der Autoxydation cytotoxischer Methylhydrazinverbindungen entsteht [2], sowie der als Zwischenstufe der Autoxydation angenommenen [2] 1,2-disubstituierten Hydrazyl-Radikale:



Die beobachteten Effekte können somit auf die «reduktive Aktivierung» [14] von Wasserstoffperoxid zurückgeführt werden. Dabei wird nur ein geringer Bruchteil der Methylhydrazin-Verbindung für die Reduktion von Eisen(III)-Ionen zur Eisen(II)-Stufe – bzw. für die Reduktion anderer Schwermetallionen – verbraucht (Gl. IV). Der grösste Teil hingegen reagiert mit *Luftsauerstoff* unter Wasserstoffperoxidbildung (vgl. [2], S. 2165). Sobald die FENTON-Reaktionskette gestartet ist, erfolgt die zur Aufrechterhaltung der Kette erforderliche Rückbildung von Eisen(II)-Ionen durch diejenige Verbindung, welche abgebaut wird und dabei Wasserstoffperoxid verbraucht (Gl. II und III).

Die hier mitgeteilten Versuchsergebnisse wurden alle *in vitro* erhalten, und es kann vorläufig nicht ausgesagt werden, ob die beobachteten Effekte für die Wirkung cytotoxischer Methylhydrazinderivate *in vivo* eine Rolle spielen.

Experimentelles. – Abgesehen von den im Text und in den Fussnoten erwähnten Modifikationen erfolgte die Bereitung der Lösungen, die Wasserstoffperoxidbestimmungen und die Viskositätsmessungen unter den bereits früher mitgeteilten Bedingungen (vgl. [2]). Die Bestimmung von Sedimentationskonstanten wurde mit einer SPINCO-Ultrazentrifuge, Modell E, unter Verwendung der Schlierenoptik bei 25,0° durchgeführt. Die Sedimentationsversuche mit Natrium-desoxyribonucleinat erfolgten mit vier Konzentrationen im Bereich zwischen 0,02 und 0,05% in einer Aluminium-Standardzelle mit 30 mm Lichtweg bei einer Tourenzahl von 50 740 U/min. Die Sedimentationsdiagramme wurden in Zeitintervallen von 8 Min. fotografiert. Die Kehrwerte der Sedi-

¹¹⁾ Pyrophosphat ist ein spezifischer Komplexbildner für Eisen, während andere Schwermetall-Ionen, wie z. B. Cu^{2+} , überhaupt nicht oder nur schwach gebunden werden; vgl. [6]. – FENTON-Reaktionen werden nicht nur durch Eisen, sondern auch durch andere, zum Valenzwechsel befähigte Schwermetall-Ionen katalysiert [12].

¹²⁾ Nachweis mittels Dipyridyl, vgl. [13].

¹³⁾ Auch andere Reduktionsmittel können FENTON-Reaktionen einleiten [4, 12].

mentationskonstanten¹⁴⁾ wurden gegen die Konzentration aufgetragen, wobei die Messpunkte praktisch auf einer Geraden lagen, welche gegen die Konzentration *limes null* extrapoliert werden konnte. Die so erhaltene Sedimentationskonstante S^0 wurde noch nach SVEDBERG & PEDERSEN (vgl. [15], S. 31) auf Standardbedingungen – 20° und Wasser als Lösungsmittel – umgerechnet. In den graphischen Darstellungen sind die so ermittelten Werte in SVEDBERG-Einheiten wiedergegeben. Im Falle der löslichen Ribonucleinsäure (s-RNS) wurden die Sedimentationsversuche mit einer Ventil-Überschichtungszelle bei einer Tourenzahl von 59780 U/min mit 3 Konzentrationen zwischen 1% und 0,4% vorgenommen. Im übrigen wurde analog verfahren wie bei der Ermittlung der Sedimentationskonstanten der DNS-Proben. Bei der Bestimmung der Sedimentationskonstanten dieses Präparates wurde festgestellt, dass unmittelbar nach Bereitung der Lösung ein rascher Abfall der Sedimentationskonstanten bis auf ungefähr 2,3 Svedberg stattfand (Literaturwert: 4,2 Svedberg, vgl. [9]), während sich nachher die Sedimentationskonstante auch nach längerer Lagerung bei 37° nur noch geringfügig änderte. Daher wurde die s-RNS-Lösung vor dem Zusatz der abbauenden Agentien 17 Std. bei 37° gelagert. – Mittels Emissionsspektalanalyse wurde der Eisengehalt und der Kupfergehalt der s-RNS zu je 5 ppm. bestimmt. Andere Schwermetalle konnten nicht nachgewiesen werden.

SUMMARY

Ultracentrifugal studies demonstrate that cytotoxic methylhydrazine derivatives such as 1-methyl-2-benzyl-hydrazine break down nucleic acids much more than added hydrogen peroxide in solution of low content of iron ions. It is further shown that the methylhydrazine derivatives mentioned increase the reactivity of hydrogen peroxide towards deoxyribose. The conclusion is that the cytotoxic methylhydrazine derivatives not only produce hydrogen peroxide but that they also promote reactions between hydrogen peroxide and organic compounds. The latter effect is ascribed to the initiation of FENTON chain reactions by the methylhydrazine derivatives or by the free radicals formed in the course of their autoxidation. The relevance of these results to the biological activity of the methylhydrazine derivatives has not yet been established.

Forschungsabteilung der
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] K. BERNEIS, M. KOFLER & W. BOLLAG, *Experientia* **20**, 73 (1964); siehe auch [2]. – Über die cytotoxische Wirkung dieser Verbindungen vgl. P. ZELLER, H. GUTMANN, B. HEGEDÜS, A. KAISER, A. LANGEMANN & M. MÜLLER, *Experientia* **19**, 129 (1963); W. BOLLAG & E. GRUNBERG, *ibid.* **19**, 130 (1963); A. RUTISHAUSER & W. BOLLAG, *ibid.* **19**, 131 (1963).
- [2] K. BERNEIS, M. KOFLER, W. BOLLAG, P. ZELLER, A. KAISER & A. LANGEMANN, *Helv.* **46**, 2157 (1963); K. BERNEIS, M. KOFLER, W. BOLLAG, A. KAISER & A. LANGEMANN, *Experientia* **19**, 132 (1963).
- [3] Vgl. W. A. WATERS, «Mechanism of Oxidation of Organic Compounds» (Methuen & Co. Ltd., London 1964, S. 39); S. FALLAB & H. ERLÉNMEYER, *Experientia* **19**, 374 (1963); R. ZELL, H. BRINTZINGER, B. PRIJS & H. ERLÉNMEYER, *ibid.* **20**, 117 (1964).
- [4] J. A. V. BUTLER & B. E. CONWAY, *J. chem. Soc.* **1950**, 3418. – J. A. V. BUTLER & K. A. SMITH, *Nature* **165**, 847 (1950). – B. E. CONWAY & J. A. V. BUTLER, *J. chem. Soc.* **1952**, 834. – J. A. V. BUTLER, «Organic Peroxides in Radiobiology», Pergamon Press, London 1958, S. 36.
- [5] R. SIGNER & H. SCHWANDER, *Helv.* **32**, 853 (1949).
- [6] W. C. SCHUMB, C. N. SATTERFIELD & R. L. WENTWORTH, «Hydrogen Peroxide», Reinhold Publishing Corp., New York 1954, S. 540; H. BRINTZINGER, B. PRIJS & H. ERLÉNMEYER, *Experientia* **16**, 468 (1960).

¹⁴⁾ Die Berechnung der Sedimentationskonstanten erfolgte mit der Näherungsgleichung von SVEDBERG & PEDERSEN [15]. – Die Extrapolation nach der Konzentration *limes null* wurde unter Verwendung der Gleichung von BRCKMAN & ROSENBERG [15] vorgenommen.

- [7] P. DOTY, B. BUNCE MCGILL & S. A. RICE, Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 432 (1958).
 [8] J. R. FRESKO & P. DOTY, J. Amer. chem. Soc. *79*, 3928 (1957).
 [9] S. W. LUBORSKY & G. L. CANTONI, Biochim. biophys. Acta *61*, 481 (1962).
 [10] M. L. KREMER & G. STEIN, Trans. Faraday Soc. *55*, 959 (1959).
 [11] Vgl. W. G. BARB, J. H. BAXENDALE, P. GEORGE & K. R. HARGRAVE, Trans. Faraday Soc. *47*, 462 (1951); siehe dort weitere Literaturangaben.
 [12] Vgl. CH. WALLING, Radiation Research *Suppl.* *3*, 10 (1963); A. J. SWALLOW, «Radiation Chemistry of Organic Compounds», Pergamon Press, Oxford 1960, S. 57; G. F. SMITH & W. L. DUNKLEY, Arch. Biochemistry Biophysics *98*, 46 (1962).
 [13] H. HILL, Proc. Roy. Soc. *107*, 205 (1930); F. FEIGL, P. KRUMHOLZ & H. HAMBURG, Z. analyt. Chem. *90*, 199 (1932).
 [14] Vgl. N. URI in W. O. LUNDBERG, «Autoxidation and Antioxidants», Vol. I, Interscience Publishers, New York 1961, S. 93.
 [15] THE SVEDBERG & K. O. PEDERSEN, «Die Ultrazentrifuge», Th. Steinkopff, Leipzig 1940, S. 16, Gl. (27b); C. O. BECKMAN & J. ROSENBERG, Ann. N. Y. Acad. Sci. *46*, 209 (1945).

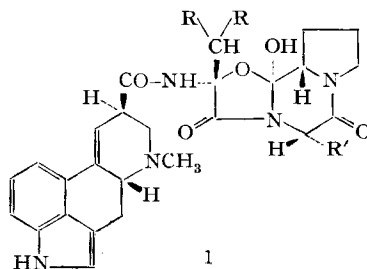
211. Die Synthese des Ergosins und des Valin-Analogen der Ergotamin-Gruppe

61. Mitteilung über Mutterkornalkaloide [1]¹⁾

von P. A. Stadler, A. J. Frey²⁾, H. Ott²⁾ und A. Hofmann

(29. VIII. 64)

Die Mutterkornalkaloide vom Peptid-Typus der allgemeinen Formel 1 [2] sind auf Grund struktureller Merkmale in zwei Gruppen unterteilt worden [3], in die Ergotamin-Gruppe und in die Ergotoxin-Gruppe. In den Alkaloiden der Ergotamin-Gruppe ist R = H, d. h. die α -Hydroxy-aminosäure, welche den Peptid-Teil mit dem



R' =

	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2\text{CH} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	
R = H	Ergotamin	Ergosin	[Ergovalin]	Ergotamin-Gruppe
R = CH_3	Ergocristin	Ergokryptin	Ergocornin	Ergotoxin-Gruppe

¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 1921.

²⁾ Jetzige Adresse: Research Laboratories, SANDOZ PHARMACEUTICALS, Hanover, N. J., USA.