

Grenzflächenaktive Polyhydroxyverbindungen. XVI¹⁾

Hämolytische und cytolytische Wirksamkeit grenzflächenaktiver Zucker-Urethane

VON E. ULSPERGER

Herrn Prof. Dr. H. Bertsch zum 65. Geburtstage gewidmet

Inhaltsübersicht

Es wird über die hämolytische und cytolytische Wirkung von N-n-Heptyl-carbaminsäure- α -D-glucopyranose-ester-(6), N-n-Octyl- und N-n-Dodecyl-carbaminsäure-saccharose-mono-ester (Isomerengemische) berichtet.

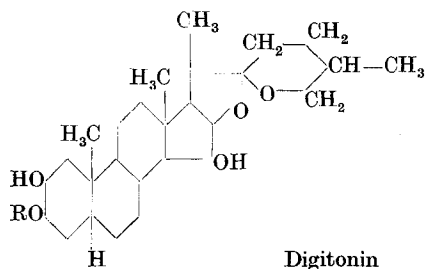
Der Vorgang der Hämolyse, bei dem entweder das Hämoglobin aus den roten Blutzellen (Erythrocyten) durch die sie umschließenden Membranen in das umliegende Medium diffundiert oder die Zellen selbst vollständig zerstört und aufgelöst werden, ist in physiologischer Hinsicht von großem Interesse. Er ist für das Absterben menschlicher Erythrocyten verantwortlich zu machen, die im biologischen Zyklus durchschnittlich ein Alter von wenigen Monaten erreichen. Auch für gewisse Krankheiten (Anämien) sind hämolytische Effekte charakteristisch. Der laboratoriumsmäßigen manometrischen Bestimmungsmethode für den Blutgasgehalt liegt das Phänomen der Hämolyse zugrunde²⁾. Hämolytische Effekte werden sowohl durch Hämolsine (Schlangengifte) als auch durch grenzflächenaktive Verbindungen, deren Wirkungsmechanismus sich jedoch von dem ersterer unterscheidet, ausgelöst. Starke hämolytische Wirkung wurde schon frühzeitig bei Saponinen entdeckt, die auf diese Eigenschaft hin umfassend untersucht wurden. Aus ihrer Reihe wurde Digitonin (C₅₆H₉₂O₂₉, Pentaglykosid des Digitogenins) am besten untersucht.

Es muß wegen seiner hämolytischen Wirkung³⁾ aus allen Digitalispräparaten, die für intravenöse Injektion bestimmt sind, gewissenhaft entfernt werden.

1) XV. Mitt.: E. ULSBERGER, J. prakt. Chem. **13**, 90 (1961).

2) S. M. HORVATH u. D. W. KNAPP, J. Lab. Clin. Med. **39**, 495—96 (1952).

3) L. FUCHS u. J. KOCH, Scientia Pharm. **18**, 85 (1950); F. JUNG u. I. SCHWARTZKOPFF, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exptl. Pathol. pharmakol. **215**, 556 (1952).



R = Rest des Pentaglykosids aus 2 Molen Glucose, 2 Molen Galactose und 1 Mol Xylose.

Hämolytische Wirkung wurde bei ionogenen wie nichtionogenen grenzflächenaktiven Verbindungen beobachtet, die auch in sehr geringen Konzentrationen (weit unter der KMK) noch wirksam sind. Dies war lange bekannt, bevor moderne Theorien der Kolloid-Assoziation entwickelt wurden. B. A. PETHICA und J. H. SCHULMAN vertreten die Ansicht, daß Hämolyse größtenteils auf Durchdringung und Zerstörung des als Schicht die Zellmembranen bedeckenden Cholesterol-phospholipid-lipoprotein-Komplexes durch grenzflächenaktive Verbindungen zurückzuführen ist⁴).

Er ist vermutlich der schwache Punkt für den Angriff. Ein kritischer niedriger Wert der Grenzflächenspannung muß aber erreicht werden, bevor die Durchdringung vonstatten geht. Den unregelmäßigen Verlauf der Hämolyse hat L. H. LOVE beschrieben⁵). Nach seinen Beobachtungen beginnt die Reaktion mit großer Anfangsgeschwindigkeit, fällt dann für eine bemerkenswerte Zeitspanne ab, bevor sie ihre Anfangsgeschwindigkeit wiedererlangt. Dieses Verhalten ist auf die progressiven Permeabilitätsveränderungen der Zellmembranen zurückzuführen. Beziehungen zwischen hämolytischer Wirkung und chemischer Struktur wurden unter Seifen und Sulfonaten aufgefunden⁶). Anscheinend sind Alkylsulfate stärker hämolytisch wirksam als quaternäre Ammoniumbasen, obgleich im C₁₆- bis C₁₈-Bereich die Sulfate so schwer löslich sind, daß ihre volle Aktivität nicht zur Geltung kommen kann. Aus diesem Grunde übertreffen die quaternären Ammoniumbasen die Sulfate in diesem Bereich an Aktivität. Radioaktive Alkylsulfate wurden von R. CROES und R. RUYSEN⁷) benutzt, um den quantitativen Verlauf des hämolytischen Effektes zu untersuchen.

⁴) B. A. PETHICA u. J. H. SCHULMAN, *Biochem. J.* **52**, 177 (1953); siehe auch J. SCHMIDT-THOME u. F. PREDIGER, *Z. physiol. Chem.* **286**, 127 (1950).

⁵) L. H. LOVE, *J. Cellular Comp. Physiol.* **86**, 133 (1950).

⁶) I. TANI, *Igaku to Seibutsugaku (Med. u. Biol.)* **21**, 194 (1951); F. L. BREUSCH u. E. ULUSOY, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **286**, 159 (1951).

⁷) s. S. 305.

Sie fanden, daß Hämolyse dann stattfindet, wenn weniger als die Hälfte der Zelloberfläche mit einer Adsorptionsschicht des grenzflächenaktiven Stoffes bedeckt ist. Wiederum andere Studien mit markierten Fettalkylsulfaten haben gezeigt, daß eine Durchdringung der Zelle sogar bei Konzentrationen erfolgt, die zu gering sind, um Hämolyse zu verursachen⁸⁾.

In der vorliegenden Arbeit soll in Ergänzung einer bereits früher erfolgten Publikation¹⁾ (Grenzflächenaktive Polyhydroxylverbindungen XV), welche das Wasch-, Schaum- und Netzvermögen von Saccharosemono-urethanen behandelt, über die hämolytische und cytolytische Wirksamkeit von Zuckerurethanen, einer neuen Klasse nichtionogener, grenzflächenaktiver Verbindungen, berichtet werden. Während bei den Saponinen Ätherbrücken, Zucker als Träger hydrophiler Eigenschaften mit Aglykonen, die entweder den Steroiden oder polycyclischen Triterpenen angehören, verknüpfen, sind bei den synthetisch hergestellten Zuckerurethanen Mono- oder Di-saccharide mit hydrophoben höhermolekularen n-Alkanen über eine Carbamidsäure-ester-brücke verbunden. Die Synthese dieser Zuckerurethane wurde durch die Auffindung indifferenten Lösungsmittel, wie z. B. Dimethylformamid ermöglicht, in denen sich Zucker verhältnismäßig gut lösen und in homogener Phase mit n-Alkylisocyanaten umgesetzt werden können. Dadurch hat das Gebiet der Zuckerchemie nicht nur eine Bereicherung mit neuen Verbindungen erfahren, es hat darüber hinaus unter diesen Verbindungen Vertreter aufzuweisen, deren überraschende Eigenschaften vielseitige Nutzenwendungen zulassen. Die erwähnten Zuckerurethane wurden durch Umsetzung von Zuckern mit n-Alkylisocyanaten in Dimethylformamid gewonnen⁹⁾. Ihren strukturellen Aufbau veranschaulichen die auf S. 306 wiedergegebenen Formelbilder.

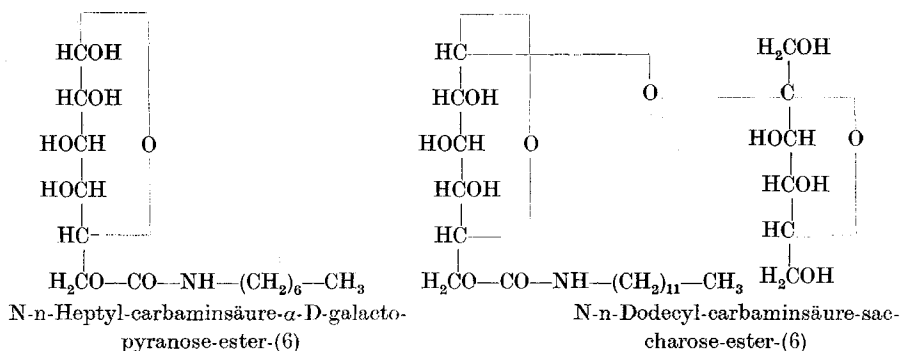
Zuckerurethane sind weiße, geruch- und geschmacklose Stoffe, die kaum hygroskopisch sind und in wäßriger Lösung außergewöhnlich stark schäumen. Japanische Autoren¹⁰⁾, die nach unseren ersten Publi-

7) R. RUYSSSEN u. R. CROES, Mededel. Koninkl. Vlaam. Acad. Wetenschap., Klasse Wetenschap. **12**, No. 4, 3 (1950); R. CROES u. R. RUYSSSEN, Bull. Soc. chim. biol. **33**, 1837 (1951); R. CROES u. R. RUYSSSEN, Congr. intern. biochim., Résumés communs. 2e Congr., Paris 1952, 431—432.

8) E. PONDER u. R. V. PONDER, J. Gen. Physiol. **37**, 411 (1953); R. C. ANDERSON, ebenda, S. 419

9) E. ULSPERGER, M. BOCK u. A. GRADEL, Fette, Seifen, Anstrichmittel **60**, 819 (1958); H. BERTSCH, E. ULSPERGER, W. GERHARDT u. M. BOCK, J. prakt. Chem. [4] **11**, 108 (1960).

10) S. KOMORI, T. AGAWA, S. TONOGAI u. K. NOZAKI, J. chem. Soc. Japan, appl. section **61**, 1250 (Okt. 1958).



kationen¹¹⁾, diese Verbindungen auch zum Gegenstand von Untersuchungen gemacht haben, berichten über die Giftigkeit dieser Stoffe. Mit C₈-, C₁₀-, C₁₄- und C₁₈-Alkylsaccharose-urethanen wurden Fütterungsversuche an Mäusen durchgeführt (2,5 g/kg und 1 g/kg Körpergewicht), wobei 2 Gruppen mit 5 Tieren (pro Tier ungefähr 12 g Körpergewicht) 2 Wochen lang beobachtet und die Urethane einmalig verabreicht wurden. Eine normale Zunahme ihres Körpergewichtes konnte festgestellt werden. Verdauungsorgane, Leber, Milz und Lunge blieben gesund.

Beim Vergleich mit Kontrollgruppen ergaben sich keine Differenzen. Um die Ausscheidung der Urethane in den einzelnen Organen zu untersuchen, wurden Fütterungsversuche mit 10 Mäusen, von denen jede Maus ein Körpergewicht von ungefähr 25 g aufzuweisen hatte, durch 2 Wochen hindurch wiederholt (1 g/kg Körpergewicht), wobei die Urethane aber täglich verabreicht wurden. Nach dieser Zeit konnte keine wesentliche Veränderung der Organe festgestellt werden. Auf Grund dieser Befunde glauben oben erwähnte Forscher die Ungiftigkeit langkettiger Mono-alkyl-saccharose-urethane genügend erhärtet zu haben.

Über hämolytische und cytolytische Wirkung von N-n-Heptyl-carbaminsäure- α -D-galactopyranose-ester-(6) ist bereits in einer vorhergehenden Publikation von uns berichtet worden⁹⁾. In der Zwischenzeit sind weitere diesbezügliche Ergebnisse über Zuckerurethane angefallen, die nun zusammenfassend in Tabellen und im Vergleich mit Naturstoffen aufgezeigt werden sollen.

Aus der Tab. 1 geht hervor, daß die hämolytische Aktivität grenzflächenaktiver Alkyl-Zuckerurethane mit dem Wachsen der Alkylkette zunimmt, für den Dodecylrest bereits aber ein Disaccharid erforderlich ist, das infolge seiner Hydroxylgruppenzahl für diesen Rest noch genügende Solubilisierungsfähigkeit in wäßriger Phase vermittelt. Eine Verlängerung der Alkylkette um 4 C-Atome bewirkt eine Steigerung der

¹¹⁾ E. ULSPERGER, Seifen, Öle, Fette, Wachse **26**, 777 (1957).

Tabelle 1

	Verdünnung	Zeit/min
N-n-Heptyl-carbaminsäure- α -D-galactopyranose-ester-(6)	1: 200	10
N-n-Octyl-carbaminsäure-saccharose-mono-ester (Isomerenmisch)	1: 400 — 1: 800	15
N-n-Dodecyl-carbaminsäure-saccharose-mono-ester (Isomerenmisch)	1: 20.000 — 1: 40.000 1: 160.000 — 1: 250.000	15 20
Handelssaponin	1: 16.000	5—30
Aescin (Kastaniensaponin)	1: 280.000	24 Stunden

hämolytischen Aktivität um das 50fache, was dem Verhalten von Octyl- und Dodecyl-saccharose-urethan im 15-Minuten-Test zu entnehmen ist. Gleichfalls ist aus Tab. 1 zu entnehmen, daß die Aktivität von Dodecyl-saccharose-urethan derjenigen eines Naturstoffes (Aescin) gleichzusetzen ist, was eine Verwendung dieses Urethans als synthetische Testsubstanz geeignet erscheinen läßt, die im Gegensatz zu Naturstoffen mit oft unterschiedlicher Zusammensetzung den Vorzug völliger Reinheit besitzt.

Im Hinblick auf das Tumorproblem wurden die Zuckerurethane auf ihre cytolytische Wirkung an EHRlich-Ascites-Carzinomzellen geprüft. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 festgehalten.

Tabelle 2

Cytolyse (Auflösung von EHRlich-Ascites-Carzinomzellen in vitro)

	Verdünnung	Zeit/min
N-n-Heptyl-carbaminsäure- α -D-galactopyranose-ester-(5)	1: 100	2
N-n-Octyl-carbaminsäure-saccharose-mono-ester (Isomerenmisch)	1: 400 — 1: 800	10
N-n-Dodecyl-carbaminsäure-saccharose-mono-ester (Isomerenmisch)	1: 8000 — 1: 16000	10

Sie sind mit denjenigen der Hämolyse in enge Beziehungen zu setzen und im Zusammenhang mit der Synthese von Cytostatika von Interesse, da es möglich erscheint, grenzflächenaktive Verbindungen zusätzlich mit cytostatisch wirksamen Gruppen zu koppeln und sie auf diese Weise für die Therapie maligner Tumoren nutzbar zu machen.

Berlin-Adlershof, Institut für Fettchemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Forschungsgemeinschaft der naturwissenschaftlichen, technischen und medizinischen Institute.

Bei der Redaktion eingegangen am 11. August 1961.