

# Über den biologischen Einfluß von N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazin und seinem Benzaldehydhydrazone auf Hefezellen (*Saccharomyces cerevisiae*)

Effect of N-Methyl-N- $\beta$ -chloroethyl-hydrazine-HCl on the Growth and Multiplication of Yeast Cells (*Saccharomyces cerevisiae*)

R. Braun und H. Lange

Institut für Pharmakologie und Toxikologie Marburg, Lahnberge

(Z. Naturforsch. 31 c, 292–297 [1976]; eingegangen am 1. Juli 1975/11. Februar 1976)

Yeast Cells, Growth Inhibition,  $\beta$ -Chloro-hydrazines

N-Methyl-N- $\beta$ -chloroethyl-hydrazine-HCl and its benzaldehydhydrazone inhibit growth and multiplication of yeast cells. The DNA-synthesis is partially blocked. After removal of the substances the rate of this synthesis is much more increased than that of RNA and protein. The both substances we tested are more effective than simple alkylhydrazines.

## Einleitung

Kulturen von Einzellern dienen oft als beliebtes Untersuchungobjekt bei der Prüfung auf chemotherapeutische, cytostatische oder mutagene Wirkung. So finden auch Hefezellen als einfach zu handhabender einzelliger Eukaryot Verwendung<sup>1–7</sup>; oft unter Zuhilfenahme synchron wachsender Kulturen<sup>5, 8</sup>. Nachdem die cytostatische Wirkung von N,N-Bis- $\beta$ -chloräthylhydrazin<sup>9</sup> und von Methylhydrazinen<sup>10, 11</sup> beschrieben wurde, waren bis zur jüngsten Zeit immer wieder Hydrazin- und Hydrazonabkömmlinge bzgl. ihrer cytostatischen Wirkung von Interesse<sup>12–16</sup>. Die mutagene Wirkung von Hydrazinderivaten wurde bereits 1964 von F. Liggins und Mitarb. beschrieben<sup>17, 18</sup>. Infolgedessen interessierten wir uns für den biologischen Einfluß des von H. Böhme und F. Martin<sup>19</sup> synthetisierten N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazins auf Hefezellen in einem von uns beschriebenen synchronisierten System<sup>20</sup>, das es ermöglicht, den Einfluß auf Wachstum und Zellvermehrung getrennt zu erfassen.

Wir prüften daher den Einfluß dieses  $\beta$ -Chloroäthylhydrazins und seinem Benzaldehydhydrazone auf das Wachstumsverhalten sowie auf die Vermehrung von Bäckerhefe (*Sacch. cerevisiae*) und verglichen ihre Wirkung mit dem einfacher Alkylhydrazine.

Sonderdruckanforderungen an Dr. R. Braun, Institutsgruppe Lahnberge, Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Lahnberge, D-3550 Marburg.

## Material

### Hefe

Die verwendete Backhefe stammte von der Fa. Moormann, Werne/Lippe. Sie wird dort von einem diploiden Stamm gezüchtet und vermehrt.

### Testsubstanzen

N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazin-HCl\*, N'-Methyl-N'- $\beta$ -chloräthyl-benzaldehydhydrazone-HCl \*\*, Procarbazine<sup>21</sup>, Hydrazinsulfat, Äthylhydrazin, N,N-Dimethylhydrazin und N,N'-Dimethylhydrazin der Fa. Merck, Darmstadt.

Als Nährlösung diente:

Glucose-Salzlösung nach Williamson und Scopes, pH 6.8. Glucose 34,00 g;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1,98 g; KCl 0,74 g;  $\text{MgCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  0,55 g;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  0,35 g;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  13,50 g; Zitronensäure 5,04 g; Aqua dest. ad 1000,0 ml. Vitaminzusatz: Vit. B<sub>1</sub>  $10^{-6}$  g/l; Vit. B<sub>6</sub>  $10^{-6}$  g/l; Biotin  $10^{-7}$  g/l.

## Methoden

### Synchronisation

Es wurden nach einem von uns beschriebenen Verfahren<sup>20</sup> durch fraktionierte Zentrifugation kleine Hefezellen mit einem Durchmesser von 3,5  $\mu\text{m}$  gewonnen.

### Versuchsansatz

Die erhaltenen kleinen Hefezellen wurden 0,1-prozentig (ca.  $1,5 \times 10^4$  Zellen/mm<sup>3</sup>) in Glucose-Salzlösung nach Williamson und Scopes bei 30 °C unter

\* Im folgenden Text als „Hydrazin“ bezeichnet.

\*\* Im folgenden Text als „Hydrazone“ bezeichnet.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

kräftiger Luftdurchperlung bei Vorschaltung einer Waschflasche gehalten. Nach 3 Stunden wurden als Vermehrungsfaktoren die Vitamine  $B_1$ ,  $B_6$  und Biotin zugesetzt. Wie systematische Voruntersuchungen gezeigt haben, reichen diese bei dem hier verwendeten Hefestamm zur Einleitung der Vermehrungsphase aus. In regelmäßigen Abständen (s. Ergebnisse) wurden aus dem Ansatz Proben entnommen und die Zellen durch Filtration über einen Porenfilter (Fa. Sartorius, Göttingen, Porenweite  $3 \mu\text{m}$ ) unter Eiskühlung geerntet. Von ihnen wurde das Gewicht sowie der Gehalt an DNA, RNA und Protein bestimmt.

#### Bestimmung von Gesamt-DNA, -RNA und -Protein

Die geerntete Hefe wurde in ein Gläschen überführt, mit 5 ml 6-prozentiger Perchlorsäure aufgeschwemmt und 30 min bei Zimmertemperatur gerührt. Anschließend wurde bei  $4^\circ\text{C}$  und  $2000 \times g$  20 min zentrifugiert, der Überstand abgesaugt und das Sediment durch 15 min Verrühren mit einem Äther-Alkoholgemisch (1+2) entfettet und erneut 20 min bei  $2000 \times g$  zentrifugiert. Das Sediment wurde mit 25 ml 6-prozentiger Perchlorsäure aufgerührt und 15 min bei  $100^\circ\text{C}$  hydrolysiert. In dem zentrifugierten Überstand wurden DNA nach Burton, RNA mit der Orcinmethode nach Barrenschein und Peham sowie Protein nach Weichselbaum bestimmt. Näheres über die Methodik s. l.c.<sup>20</sup>.

#### Messung der Sproßzahl

Zu bestimmten Zeitpunkten (s. Ergebnisse) nach Zugabe der Vermehrungsfaktoren wurden kleine Teile dem Versuchsansatz entnommen und mit Hilfe einer Neubauer'schen Zählekammer die Zahl der gesproßten Zellen bestimmt.

#### Ergebnisse

Der Wirkbereich von ‚Hydrazin‘ und ‚Hydrazone‘ bezüglich des Gewichts sowie von DNA-, RNA- und Proteinentwicklung geht aus den Tabn I – IV hervor.

Beide Substanzen üben während der reinen Wachstumsphase ( $0-3$  h) nur einen mäßigen Hemmeffekt (bis zu 20%) auf das Wachstum der Hefezellen aus, der durch Steigerung der Substanzkonzentration von  $10^{-5}$  auf  $10^{-3} \text{ mol/l}$  nicht deutlich beeinflußt wird (Tab. I). Nach Zugabe der Vermehrungsfaktoren nimmt das Gewicht der Kontrolle allerdings wegen der bald einsetzenden Zellvermehrung erheblich schneller zu. Nun macht sich auch eine konzentrationsabhängige Hemmung der Gewichtsentwicklung bemerkbar, wobei sich jedoch zwischen ‚Hydrazin‘ und ‚Hydrazone‘ kein entscheidender Unterschied ausbildet. Während die Hemmrate bei einer  $10^{-5} \text{ M}$  Konzentration bei ca. 25% liegt, erreicht sie bei der  $10^{-3} \text{ M}$  Konzentration rund 70%.

Tab. I. Gewichtszunahme synchron wachsender Hefe unter verschiedenen Konzentrationen von N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazin-HCl und N'-Methyl-N'- $\beta$ -chloräthylbenzaldehydhydrazone-HCl. Die Substanzzugabe erfolgte unmittelbar nach Entnahme des Nullwertes.

Zeit [min]	Kontrolle	Konzentration [M]						
		$10^{-5}$ ,Hydrazin‘	$10^{-5}$ ,Hydrazone‘	$5 \times 10^{-5}$ ,Hydrazin‘	$5 \times 10^{-5}$ ,Hydrazone‘	$2,5 \times 10^{-4}$ ,Hydrazin‘	$2,5 \times 10^{-4}$ ,Hydrazone‘	$10^{-3}$ ,Hydrazin‘
0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
30	1,08		1,25	1,15	1,10	1,08	1,12	1,18
60	1,29	1,31	1,37	1,36	1,19	1,25	1,28	1,34
90	1,50		1,37	1,52	1,28	1,45	1,40	1,46
120	1,67	1,34	1,65	1,68	1,43	1,58	1,48	1,51
150	1,75		1,75	1,75	1,52	1,67	1,56	1,58
180	2,00	1,78	1,93	1,84	1,61	1,71	1,68	1,58
Vitaminzugabe								
210	2,20		1,96	2,20	1,88	1,79	1,76	1,63
240	2,29	2,51	2,09	2,43	2,22	1,87	1,84	1,95
270	2,50		2,78	2,72	2,44	2,00	1,92	2,05
300	3,51	3,13	3,28	3,18	2,71	2,37	1,96	2,07
330	4,16		4,12	3,64	2,80	2,50	2,00	2,23
360	4,95	4,04	4,59	3,95	3,32	2,62	2,36	2,35
390	5,45		4,59	4,54	3,73	3,00	2,60	2,46
420	6,45	5,24	5,71	5,09	4,07	3,12	2,80	2,37
450	8,12		6,37	5,52	4,47	3,37	3,04	2,53
480	9,58	7,23	7,00	6,36	5,82	3,45	3,28	2,79

Tab. II. DNA-Synthese in Hefezellen unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen von N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazin-HCl und N'-Methyl-N'- $\beta$ -chloräthylbenzaldehydhydrazone-HCl. Die Substanzzugabe erfolgte unmittelbar nach Entnahme des Nullwertes.

Zeit [min]	Kontrolle	Konzentration [M]					
		$5 \times 10^{-5}$		$2,5 \times 10^{-4}$		$10^{-3}$	
		,Hydrazin'	,Hydrazone'	,Hydrazin'	,Hydrazone'	,Hydrazin'	,Hydrazone'
Vitaminzugabe							
0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
30	0,98	1,01	1,00	0,98	1,05	1,02	1,00
60	1,02	1,00	0,95	0,95	1,0	1,02	1,00
90	1,00	0,98	1,02	0,94	1,04	1,03	1,00
120	1,02	0,99	1,00	1,02	0,96	1,04	1,00
150	1,02	0,98	1,02	0,98	1,00	1,02	1,04
180	1,04	1,06	1,00	0,98	1,05	0,95	1,03
210	1,08	1,08	1,08	1,02	1,00	0,99	1,03
240	1,13	1,09	1,10	0,98	1,05	1,1	1,03
270	1,16	1,09	1,20	1,02	1,16	1,09	1,01
300	1,17	1,09	1,20	1,03	1,07	1,1	1,01
330	1,85	1,22	1,4	1,07	1,03	1,1	1,00
360	2,02	1,24	1,77	1,05	1,15	1,1	0,97
390	2,56	1,44	2,09	1,02	1,10	1,09	0,96
420	2,99	1,57	2,22	1,07	1,05	1,08	0,97
450	3,79	1,66	2,36	1,12	1,13	1,07	1,00
480	4,38	2,00	3,36	1,14	1,10	1,07	1,00

Daß das „Hydrazone“ oberhalb der  $2,5 \times 10^{-4}$  M Konzentration keine weitere Wirkungssteigerung mehr erfährt, findet seine Ursache in der Hydrolyse des „Hydrazone-HCl“, wobei die Base sich etwa ab  $2,5 \times 10^{-4}$  M Konzentration ölig abscheidet.

Die RNA- und Proteinsynthese wird in den ersten 3 Stunden des Versuches nachhaltig gebremst; „Hy-

drazin“ bei  $10^{-3}$  M: RNA – 66%, Protein – 39%; „Hydrazone“ bei  $10^{-3}$  M: RNA – 56%, Protein – 18%. Am Ende des Versuches ist die Hemmung noch deutlicher ausgebildet; „Hydrazin“ bei  $10^{-3}$  M: RNA – 73%, Protein – 77%; „Hydrazone“ bei  $10^{-3}$  M: RNA – 45%, Protein – 73% (Tabn III und IV).

Tab. III. RNA-Synthese in Hefezellen unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen von N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazin-HCl und N'-Methyl-N'- $\beta$ -chloräthylbenzaldehydhydrazone-HCl. Die Substanzzugabe erfolgte unmittelbar nach Entnahme des Nullwertes.

Zeit [min]	Kontrolle	Konzentration [M]					
		$5 \times 10^{-5}$		$2,5 \times 10^{-4}$		$10^{-3}$	
		,Hydrazin'	,Hydrazone'	,Hydrazin'	,Hydrazone'	,Hydrazin'	,Hydrazone'
Vitaminzugabe							
0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
30	1,31	1,12	1,16	1,04	1,14	1,05	1,10
60	1,76	1,22	1,33	1,16	1,33	1,17	1,11
90	2,14	1,31	1,41	1,29	1,39	1,23	1,23
120	2,44	1,47	1,50	1,42	1,43	1,25	1,32
150	3,03	1,66	1,72	1,75	1,57	1,22	1,35
180	3,52	1,76	1,87	1,80	1,70	1,20	1,56
210	4,13	2,00	2,07	1,96	2,04	1,19	1,50
240	4,55	2,10	2,35	2,00	2,11	1,68	1,45
270	4,68	2,6	2,70	2,38	2,29	1,71	1,51
300	4,89	2,8	2,80	2,43	2,37	1,77	1,94
330	5,37	3,3	3,40	2,52	2,41	1,80	1,99
360	5,78	3,7	3,87	2,57	2,45	1,80	2,06
390	5,85	2,3	4,10	2,76	2,52	1,79	2,17
420	6,23	4,9	3,30	2,90	2,59	1,76	2,28
450	6,62	5,2	5,45	2,96	2,70	1,74	2,48
480	7,61	5,5	5,90	3,05	2,89	2,10	2,66



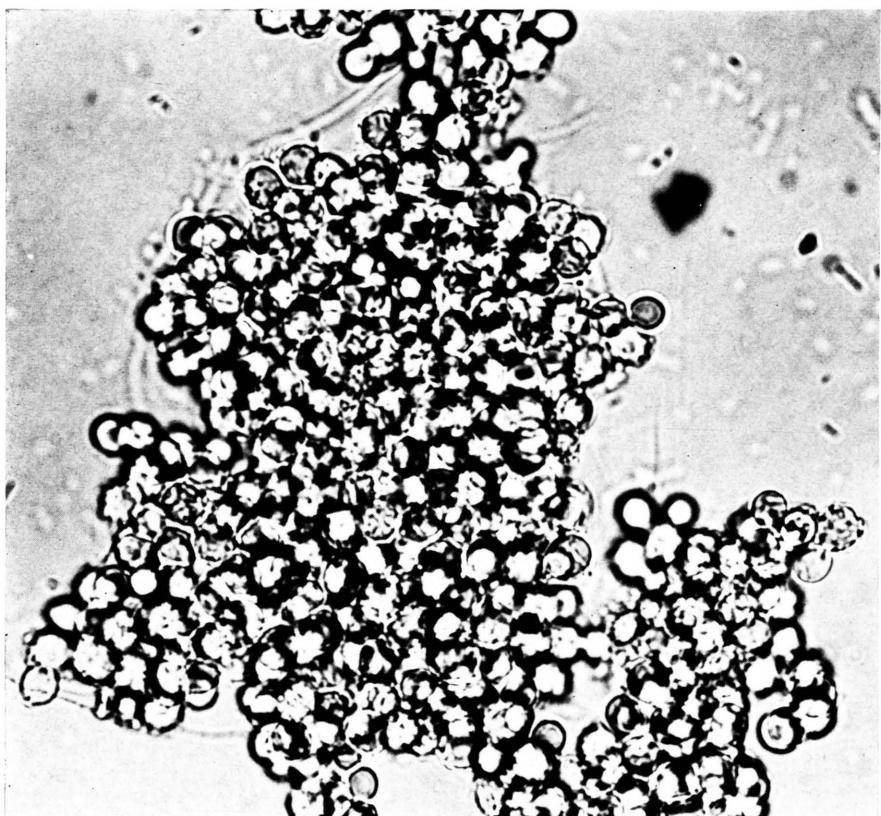


Abb. 3 a

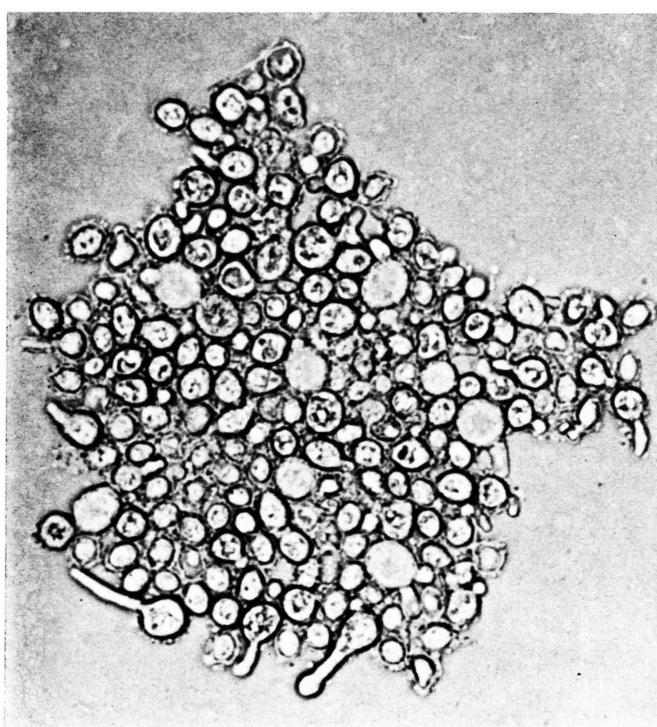


Abb. 3 b

Abb. 3. a. Hefezellen nach 24-stündiger Behandlung unter  $10^{-3}$  mol/l *N*'-Methyl-*N*'-β-chloräthylbenzaldehydhydrazon-HCl; b. Zellen von a. nach 8 weiteren Stunden ohne Substanzeinfluß.

Tab. IV. Protein-Synthese in Hefezellen unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen von N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazin-HCl und N'-Methyl-N'- $\beta$ -chloräthylbenzaldehydhydrazon-HCl. Die Substanzzugabe erfolgte unmittelbar nach Entnahme des Nullwertes.

Zeit [min]	Kontrolle	Konzentration [M]					
		$5 \times 10^{-5}$		$2,5 \times 10^{-4}$		$10^{-3}$	
		,Hydrazin'	,Hydrazon'	,Hydrazin'	,Hydrazon'	,Hydrazin'	,Hydrazon'
0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
30	1,05	1,11	1,05	1,05	1,05	1,08	1,2
60	1,20	1,20	1,15	1,19	1,13	1,2	1,2
90	1,35	1,27	1,1	1,33	1,13	1,3	1,3
120	1,45	1,35	1,25	1,43	1,14	1,4	1,4
150	1,50	1,43	1,35	1,62	1,19	1,45	1,45
180	1,95	1,58	1,62	1,40	1,77	1,19	1,62
Vitaminzusatz							
210	2,05	1,67	1,88	1,50	1,81	1,22	1,50
240	2,15	1,88	2,22	1,65	1,91	1,47	1,45
270	3,10	2,10	2,73	1,75	1,95	1,55	1,50
300	3,75	2,51	3,11	1,85	2,05	1,75	1,76
330	4,25	3,05	3,80	2,00	2,48	1,77	1,96
360	5,20	3,65	4,68	2,45	2,76	1,80	2,07
390	6,35	4,43	5,2	2,60	2,91	2,02	2,12
420	7,61	5,20	5,28	2,75	3,00	2,08	2,17
450	9,10	5,81	6,51	2,85	3,43	2,16	2,70
480	10,50	6,25	7,3	3,46	3,77	2,38	2,77

Interessant ist der Verlauf der DNA-Synthese (Tab. II). Bis zum Versetzen mit den Vermehrungsfaktoren bleibt der DNA-Gehalt erwartungsgemäß in der reinen Wachstumsphase konstant. Danach nimmt der DNA-Gehalt der Kontrolle nach eintretender Sprossung rasch zu, und am Ende des Versuches haben etwas mehr als zwei DNA-Replikationen stattgefunden. ,Hydrazin' und ,Hydrazon' dagegen vermögen die DNA-Entwicklung stark zu unterdrücken. So tritt bereits unter  $5 \times 10^{-5}$  mol/l ,Hydrazin' eine Verzögerung des Beginns der DNA-Replikation um 90 min ein. Außerdem ist die Replikationszeit um 30 min gegenüber der Kontrolle verlängert.  $2,5 \times 10^{-4}$  mol/l ,Hydrazin' und ,Hydrazon' vermögen die DNA-Synthese praktisch vollständig zu unterdrücken.

Dies macht sich auch in einer fehlenden Sproßbildung bemerkbar (Abb. 1). Bei der Kontrolle ist die erste Sproßbildung 150 min nach Vitaminzugabe beendet. Dagegen ist das mikroskopische Bild behandelter Hefesuspensionen nahezu frei von Sprossen. Der Anteil der gesproßten Zellen beträgt am Ende der Versuchszeit etwa 2–3 Prozent.

Bei der Gewichtsentwicklung (Tab. I) fällt auf, daß die behandelten Kulturen bei Versuchsende ohne Sprossung mehr Biomasse gebildet haben als die Kontrolle zur Zeit beginnender Sprossung. So nahm das Hefegewicht unter  $2,5 \times 10^{-4}$  mol/l ,Hydrazon' innerhalb von 8 Stunden um das 3,28-fache,

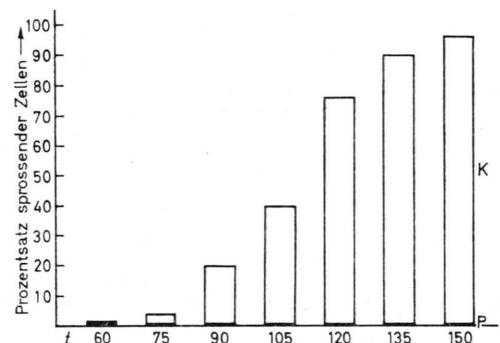


Abb. 1. Sproßbildung bei synchron wachsender Hefe nach Zugabe von Vermehrungsfaktoren: K, Kontrolle; P,  $2,5 \times 10^{-4}$  mol/l N-Methyl-N- $\beta$ -chloräthylhydrazin-HCl.

bei der Kontrolle bis zum Beginn der Sprossung (60 min nach Vitaminzufuhr) nur um das 2,29-fache des Ausgangsgewichtes zu. Aus dem Quotienten ( $Q_P^K = 1,43$ ) läßt sich ableiten, da ja keine Zellvermehrung stattgefunden hat, daß die behandelten Zellen einen um ca. 13 Prozent größeren, mittleren Durchmesser besitzen müssen als die Kontrollen.

Die Wachstumshemmung bleibt über einen längeren Zeitraum erhalten. Bei einer asynchron wachsenden Hefezellkultur nimmt aber nach 8 Stunden unter dem Einfluß von  $10^{-3}$  mol/l ,Hydrazon' der DNA-Gehalt langsam zu und hat nach 24 Stunden das 14-fache des Ausgangswertes erreicht: Die

RNA- und Proteinsynthese nehmen im Verhältnis zur Kontrolle einen entsprechenden Verlauf wie die DNA-Synthese (Abb. 2).

Entzieht man nach 24 Stunden die Substanz, so kommt es zu starkem überproportionalen DNA-Anstieg, der den der Kontrolle bei weitem übertrifft (Abb. 2).

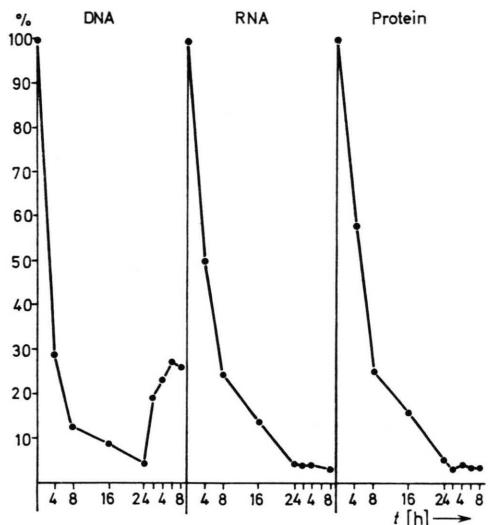


Abb. 2. Synthese von DNA, RNA und Protein in asynchron wachsenden Hefezellen im Verhältnis zur Kontrolle. Zunächst 24 Stunden unter  $10^{-3}$  mol/l, N'-Methyl-N'-β-chloräthylbenzaldehydrazon-HCl, danach 8 Stunden ohne Substanz-einfluß. Der DNA-, RNA- und Proteingehalt der Kontrolle wurde zu jedem gemessenen Zeitpunkt gleich 100 Prozent gesetzt.

Da sich die RNA- und Proteinsynthese jetzt nicht analog verhalten, erfolgt die DNA-Synthese offensichtlich ohne entsprechende Zellenvermehrung.

Weiterhin vollzieht sich unter der Substanz-einwirkung eine stärkere Veränderung der Zellwand. Wie Abb. 3 a \* zeigt, klumpen die Zellen unter 24-stündiger Behandlung stark zusammen, wobei die Zellwände einen stark gequollenen Eindruck machen. Nach Entzug der Substanz kommt es zur Ausbildung zahlreicher degenerierter Formen (Abb. 3 b). Auf Grund dieser Klumpenbildung ist eine Bestimmung der Zellzahl zu diesem Zeitpunkt leider nicht mehr möglich.

Zu diesem Zeitpunkt lassen sich auch zahlreiche Zellen durch eine Trypanblau-Vitalfärbung anfärben.

Im Vergleich mit mehreren einfachen Alkylhydrazinen hemmen „Hydrazin“ und „Hydrazone“ am stärk-

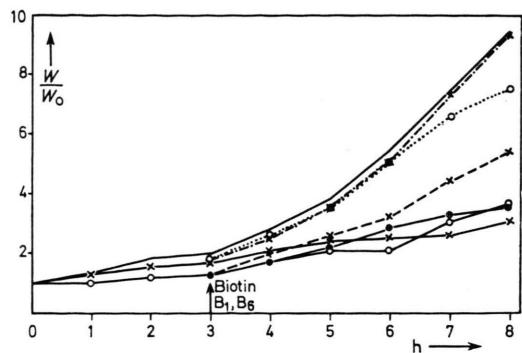


Abb. 4. Gewichtsentwicklung synchron wachsender Hefe unter dem Einfluß von  $10^{-3}$  mol/l N-Methyl-N'-β-chloräthylbenzaldehydrazon-HCl  $\times - \times$ , N'-Methyl-N'-β-chloräthylbenzaldehydrazon-HCl  $\circ - \circ$ , Hydrazinsulfat  $\bullet - \bullet$ , Äthylhydrazinacetat  $\times - \cdots - \times$ , N,N'-Dimethylhydrazin-HCl  $\circ - \cdots - \circ$ , N,N-Dimethylhydrazin  $\times - \cdots - \times$ , Kontrolle —.

sten das Wachstum von Hefezellen (Abb. 4). Den nächst stärkeren Effekt üben das einfache Hydrazin und Äthylhydrazin aus. Das symmetrische und asymmetrische Dimethylhydrazin bleiben ohne größeren Einfluß. Bei der DNA-, RNA- und Proteinsynthese zeichnet sich ein ähnliches Verhalten ab (Abbn. 5 – 7). Keines der zum Vergleich herangezogenen Derivate vermag in Konzentrationen von

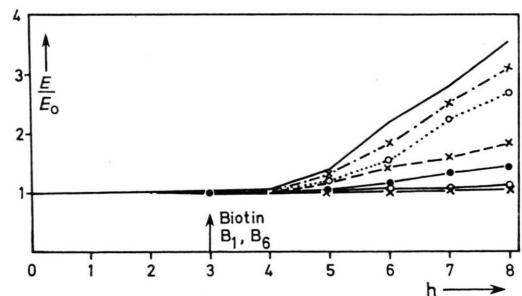


Abb. 5. DNA-Synthese synchron wachsender Hefe (weitere Erklärung s. Legende Abb. 4.).

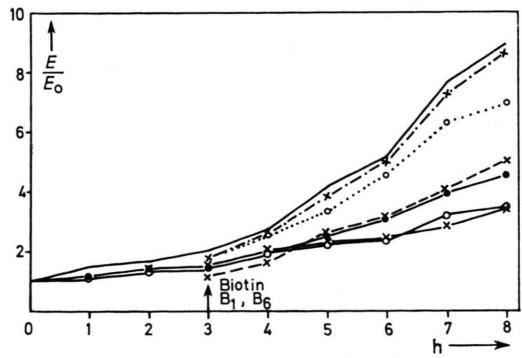


Abb. 6. RNA-Synthese synchron wachsender Hefe (weitere Erklärung s. Legende Abb. 4.).

\* Abbn. 3 a und 3 b siehe Tafel auf Seite 294 b.

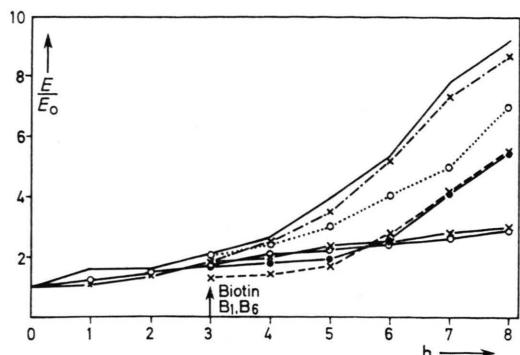


Abb. 7. Protein-Synthese synchron wachsender Hefe (siehe Legende Abb. 4).

$10^{-3}$  mol/l die Sprossung zu unterdrücken. Es kommt lediglich zu unterschiedlich langer Verzögerung.

## Diskussion

Durch Ersatz einer Methylgruppe durch eine  $\beta$ -Chloräthylgruppe im asymmetrischen Dimethylhydrazin konnte seine nur schwache fungistatische Wirkung erheblich gesteigert werden. Dies ist um so erstaunlicher, da unter den Alkylhydrazinen gerade die asymmetrisch dialkylierten Produkte den geringsten Effekt zeigen. Es ist zunächst naheliegend, die Wirkungssteigerung in der alkylierenden Eigenschaft der  $\beta$ -Chloräthylgruppe zu suchen, obwohl aus Untersuchungen an Lostderivaten bekannt ist, daß für einen deutlich wachstumshemmenden Effekt wenigstens zwei Chloräthylgruppen im Molekül vorhanden sein müssen. Außerdem nimmt die alkylierende Eigenschaft mit steigender Nucleophilie des zum Chloratom in  $\beta$ -Stellung sich befinden-

\* Der Firma BASF Ludwigshafen/Rhein sind wir für die Überlassung dieser Substanz zu großem Dank verpflichtet.

- <sup>1</sup> G. R. Gale, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **119**, 1004 [1965].
- <sup>2</sup> F. K. Zimmermann, R. Schwaier u. U. v. Laer, Z. Vererbungsl. **98**, 230 [1966].
- <sup>3</sup> F. K. Zimmermann u. R. Schwaier, Molec. Gen. Genetics **100**, 63 [1967].
- <sup>4</sup> J. M. Parry, Molec. Gen. Genetics **106**, 66 [1969].
- <sup>5</sup> M. L. Slater, J. Bacteriol. **113**, 263 [1973].
- <sup>6</sup> D. Siebert, Mutation Res. **17**, 307 [1973].
- <sup>7</sup> A. Polak u. H. J. Scholer, Path. Microbiol. **39**, 148 [1973].
- <sup>8</sup> H. Hilz u. H. Eckstein, Biochemistry 2, **340**, 351 [1964].
- <sup>9</sup> R. Preussmann, C. Satzinger u. D. Schmähl, Angew. Chemie **70**, 743 [1958].
- <sup>10</sup> P. Zeller, B. Gutmann, A. Hegedüs, A. Kaiser, M. Langemann u. M. Müller, Experientia **19**, 129 [1963].
- <sup>11</sup> W. Bollag u. E. Grunberg, Experientia **19**, 130 [1963].
- <sup>12</sup> J. Laszlo, J. Durant u. V. Loeb, Cancer Chemotherapy Report Part 1 **53**, 131 [1969].
- <sup>13</sup> B. Prescott u. G. Caldes, J. Pharm. Sci. **59**, 101 [1970].
- <sup>14</sup> D. K. Yung, D. E. Mahony u. L. W. Whitehouse, J. Pharm. Sci. **60**, 386 [1971].
- <sup>15</sup> Ch. E. Berkoff, P. N. Craig, B. P. Gordon u. C. Pellerano, Arzneim.-Forsch. **23**, 830 [1973].
- <sup>16</sup> J. Gold, Oncology **27**, 69 [1973].
- <sup>17</sup> F. Lingens, Z. Naturforsch. **19 b**, 151 [1964].
- <sup>18</sup> F. Lingens, H. Kraus u. S. Lingens, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **339**, 1 [1964].
- <sup>19</sup> H. Böhme u. F. Martin, Arch. Pharm. (Weinheim) **307**, 272 [1974].
- <sup>20</sup> R. Braun, W. Schmid u. K. Stossek, Z. Naturforsch. **30 c**, 245 [1975].
- <sup>21</sup> Wir danken der Fa. Hoffmann-La Roche für die Überlassung der Substanz.
- <sup>22</sup> R. Braun u. E. Hefter, in Vorbereitung.
- <sup>23</sup> G. Weitzel, F. Schneider, A. M. Fretzdorff, J. Durst u. W. D. Hirschmann, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **348**, 433 [1967].

den Stickstoffs zu. Da aber das Dimethyl- $\beta$ -chloräthylamin, in dem der Stickstoff eine höhere Nucleophilie als im „Hydrazin“ und erst recht als im „Hydrazon“ besitzt, ohne Einfluß auf das Wachstum und die Vermehrung von Hefezellen ist<sup>22</sup>, kann die Wirkung des „Hydrazins“ zumindest nicht allein auf das alkylierende Verhalten zurückgeführt werden. Andererseits bleibt aber das als Wachstumsregulator bekannte N,N-Dimethyl-N- $\beta$ -chloräthyl-hydrazinium-chlorid \*, bei dem die Ausbildung einer intermediären, zur Alkylierung befähigten Aziridiniumstruktur im Gegensatz zum „Hydrazin“ nicht möglich ist, ebenfalls ohne Einfluß auf das Hefewachstum.

Nach Weitzel, Schneider *et al.*<sup>23</sup> ist die cytostatische Eigenschaft von Monomethylhydrazinen in der Oxidation zu Formalhydrazin unter Bildung von Wasserstoffperoxid zu suchen. Formalhydrazin ist einmal zu Aminoalkylierungen befähigt und kann aber auch hydrolytisch zu fungistatisch wirksamen Formaldehyd und Hydrazin zerfallen. Wie aus Versuchen hervorgeht<sup>22</sup>, bildet „Hydrazin“, nicht aber „Hydrazon“ *in vitro* zwar Wasserstoffperoxid, aber kein Formaldehyd. Dabei zeigte sich, daß das „Hydrazon“ über mehr als acht Stunden nicht zur Hydrolyse neigte. Es muß daher geschlossen werden, wenn nicht Permeabilitätsprobleme eine Rolle spielen, daß die  $\beta$ -Chloräthylgruppe zu einer Aktivierung der Methylhydrazinstruktur führt, wobei die Methylgruppe vermutlich erst in der Zelle als Wirkgruppe zur Geltung kommt. Die freie NH<sub>2</sub>-Gruppe des „Hydrazins“ scheint dabei eine untergeordnete Rolle zu spielen, wie aus der Wirksamkeit des „Hydrazons“ hervorgeht. Ein partiell unterschiedlicher Mechanismus zwischen „Hydrazin“ und „Hydrazon“ kann nach den bisher vorliegenden Ergebnissen aber noch nicht ausgeschlossen werden.