

Stud. g. 10/63

ZEITSCHRIFT
FÜR
KREBSFORSCHUNG

UNTER MITWIRKUNG VON

- | | | |
|----------------------------------|--|---------------------------------|
| K. H. BAUER
HEIDELBERG | W. BÜNGELER
MÜNCHEN | H. DANNENBERG
MÜNCHEN |
| H. DRUCKREY
FREIBURG | H. FRIEDRICH-FREKSA
TÜBINGEN | S. KOLLER
WIESBADEN |
| H. LETTRÉ
HEIDELBERG | R. LETTRÉ
HEIDELBERG | H. MARTIUS
GÖTTINGEN |
| H. MEESEN
DÜSSELDORF | N. SCHÜMMELFEDER
BONN | |

HERAUSGEGEBEN

VON

G. DOMAGK UND **H. HAMPERL**
WUPPERTAL-ELBERFELD BONN

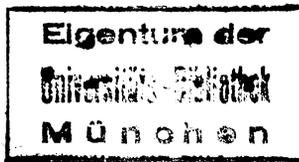
63. BAND

MIT 278 TEXTABBILDUNGEN (DAVON 1 FARBIGE)



SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN / MÜNCHEN

1959/60



Alle Rechte, einschließlich das der Übersetzung in fremde Sprachen und das der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung, vorbehalten. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen*

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften

Springer-Verlag OHG / Berlin · Göttingen · Heidelberg
J. F. Bergmann · München
Printed in Germany

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg

Inhalt des 63. Bandes

1. Heft

(Abgeschlossen am 6. Oktober 1959)

	Seite
GESSNER, G., Plasmocytomfragen an Hand einer Häufigkeitsstatistik. Mit 1 Textabbildung	1
HRADEC, J., Effect of added tissue-homogenates on the incorporation of labelled methionine into the proteins of Ehrlich ascites carcinoma <i>in vitro</i> . With 2 Figures in the Text	4
LETNANSKY, K., und F. M. ALLEN, Über die Schädigung von Rattentumoren durch Ischämie. Mit 3 Textabbildungen	12
FISCHER, R., Über den histochemischen Nachweis der Aminopeptidase im Krebsgewebe. Mit 2 Textabbildungen	18
DRUCKREY, H., D. SCHMÄHL, D. STEINHOFF, M. RAJEWSKY, P. BANNASCH und TH. FLASCHENTRÄGER, Cytolysierende Wirkung von Extrakten aus normalen Geweben auf verschiedene Tumoren der Ratte. Mit 11 Textabbildungen	28
HELLWEG, G., Über „solide Angiome“ des Uterus. Mit 4 Textabbildungen	57
MÖSE, J. R., und G. MÖSE, Onkolyseversuche mit apathogenen, anaeroben Sporenbildnern am Ehrlich-Tumor der Maus. Mit 11 Textabbildungen	63
Histologische Nomenklatur menschlicher Tumoren	75

2. Heft

(Abgeschlossen am 16. November 1959)

HEISE, E., und W. LÜHRS, Über den Einfluß von Glutathion auf den Stoffwechsel von Transplantationstumoren	99
DANNENBERG, H., Beitrag zur krebserzeugenden Wirkung aromatischer Kohlenwasserstoffe und verwandter Verbindungen	102
BETZLER, H. J., und J. LEONHARDT, Sarkom in einer Laparotomienarbe. Mit 3 Textabbildungen	118
SOLTH, K., H. LÖHR, M. SCHMIDT und I. SAURBIER, Gibt es Warnzeichen für die Mammacarcinom-Trägerinnen in der Individual- und Familiengeschichte?	122
SCHÜMMELFEDER, N., W. WESSEL und E. NESSEL, Die Wirkung von 3,6-Diaminoacridinen auf Wachstum und Zellteilung im Ehrlich-Ascitestumor. Mit 8 Textabbildungen	129
GUERRITORE, D., Einfluß von Detergentien auf die Infektiosität von Rous-Sarkomextrakten. Mit 3 Textabbildungen	142
KERN, G., Zelltypen im cytologischen Vaginalausstrich und ihre Zuordnung zu histologischen Bildern. Mit 3 Textabbildungen (davon 1 farbig)	149
GROPP, A., Vergleichende enzymhistochemische Beobachtungen zum Phosphatasenachweis an einigen Carcinomzellstämmen <i>in vitro</i> sowie über milieubedingte Veränderungen der Enzymaktivität. Mit 4 Textabbildungen	156
KERN, G., und J. ZANDER, Gefäßveränderungen im Verlauf der Carcinogenese. Lebendbeobachtungen am Ohr der Maus nach Pinselung mit Methylcholanthren. Mit 14 Textabbildungen	168
MAKINO, S., T. ISHIHARA and A. TONOMURA, Cytological Studies of Tumors, XXVII. The Chromosomes of Thirty Human Tumors. With 42 Figures in the text	184

	Seite
YOSIDA, T. H., Chromosomal Alteration and the Development of Tumors. I. A new subline of Yoshida sarcoma developed by chromosomal mutation. With 12 figures in the text	209

3. Heft

(Abgeschlossen am 18. Januar 1960)

WRBA, H., und H. RABES, Zur Frage der Tumorresistenz-Übertragung im Parabiose- versuch	215
DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN und D. SCHMÄHL, Erzeugung von Krebs an Ratten durch Implantation von Teerpech aus Wasserrohren. Mit 3 Textabbildungen	219
HILWIG, I., Entwicklung und Verhalten eines Rattensarkoms während 5jähriger Züchtung in der Gewebekultur. Mit 25 Textabbildungen	222
HANSCHKE, H. J., Die chromosomale Geschlechtsbestimmung beim Portiocarcinom und beim Bronchialcarcinom des Mannes. Mit 1 Textabbildung	232
SEELICH, F., und K. LETNANSKY, Über die Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauches von Ehrlich-Ascites-Carcinomzellen von der Oxydation der Glucose über den Hexose- Monophosphat-Shunt. Untersuchungen zur Frage des Reaktionsmechanismus des „Crabtree-Effektes“. Mit 7 Textabbildungen	236
SCHMIDT, C. G., und H. VERMATHEN, Über den Einfluß cytotatischer Behandlung auf die Tumordysproteinämie. Mit 2 Textabbildungen	249
HAAS, E., und W. LORENZ, Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Schilddrüsenhormons auf die Strahlenempfindlichkeit von Impftumoren. II. Mit- teilung. Zur Pharmakologie ionisierender Strahlen. Mit 2 Textabbildungen	255
BENCZE, G., Die Anwendung der Gewebezüchtung für die Krebsdiagnose aus Exsudaten. Mit 3 Textabbildungen	259
SIEGEL, D., und H. IWAINSKY, Über die Beeinflussung von Ehrlich'schem Ascitescarcinom der Maus durch Isonicotinsäurehydrazid. Mit 2 Textabbildungen	263
LÖBLICH, H. J., und CHR. LANDSCHÜTZ, Vergleichende elektronenoptische Unter- suchungen am Ehrlich- und Sa I-Ascitestumor. Mit 7 Textabbildungen	269
SCHMIDT, F., und W. TESSENOW, Methodische Versuche zur Einrichtung einer Tumor- bank. Mit 1 Textabbildung	284
GLÄSS, E., Die chromosomalen Veränderungen in der Rattenleber während der krebsigen Entartung nach Verfütterung von Buttergelb. Mit 4 Textabbildungen	294

4. Heft

(Abgeschlossen am 25. April 1960)

HORBACH, L., Kritische Untersuchungen der internationalen Sterblichkeitsstatistik der Krebskrankheiten im Vergleich mit anderen Todesursachen	311
BOLL, I., Vergleichende mikroautoradiographische Untersuchungen mit P ³² und Au ¹⁹⁸ an Knochenmark und Tumorzellen. Mit 3 Textabbildungen	330
LÖBLICH, H. J., und CHR. LANDSCHÜTZ, Elektronenoptische Untersuchungen an Ascites- tumorzellen nach Einwirkung heterologer Antisera. Mit 7 Textabbildungen	335
SCHNEWEISS, U., E. LISS, P. LANGEN und F. SCHMIDT, Über Versuche zur immuno- logischen Abgrenzung von Desoxyribonukleoproteiden aus einem transplantablen Nierencarcinom des Goldhamsters und aus normaler Goldhamsterniere	345
SCHMIDT, C. G., und H. THEMANN, Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Tumorzellen und ihre Beeinflussung durch cytotatische Behandlung. Mit 5 Text- abbildungen	351
GLÄSS, E., Die Chromosomenzahlen in der durch Buttergelbverfütterung krebsig entarte- ten Rattenleber	362
GÁTI, É., Über die Resistenz der Geschwulstzellen gegen Chemotherapeutica. Mit 4 Textabbildungen	372
HAFEKAMP, O., Über die Neurome. Mit 8 Textabbildungen	378
SCHMIDT, F., Über die Bedeutung virusartiger Agentien mit leukämieerzeugender Fähigkeit in spontanen Mamma-Carcinomen und in Transplantationstumoren der Maus	409

5. Heft

(Abgeschlossen am 21. Juni 1960)

	Seite
WRBA, H., Die Wirkung von Glucose auf die Aufnahme von hochmolekularen Partikeln durch Tumorzellen in vitro. Mit 8 Textabbildungen	415
HORBACH, L., Kritische Untersuchungen zur gebietsweisen Höhe der Krebssterblichkeit in Frankreich	423
WRBA, H., und M. RIPOLL-GÓMEZ, Die cytologische Analyse des spontan heterotransplantablen Stammes MR-RM des Walker-Tumors in Ascitesform. Mit 3 Textabbildungen	439
MÖSE, J. R., Zur Beeinflußbarkeit verschiedener Tiertumoren durch einen apathogenen Clostridienstamm	447
FRIEDRICH, W., Hypernephroides Carcinom nach Thorotrastanwendung und eosinophiles Adenom der Hypophyse. Mit 2 Textabbildungen	456
RANZ, H., Zur Histogenese der Granulosazelltumoren. Mit 5 Textabbildungen	460
HAEMMERLI, G., Erfolgreiche Transplantation eines menschlichen Sigmacarcinoms auf konditionierte Ratten und Goldhamster. Mit 4 Textabbildungen	468
BÖRNER, P., Eine Papillomatose der intra- und extrahepatischen Gallenwege. Mit 5 Textabbildungen	474
MERKER, H.-J., H. GREILING und TH. GÜNTHER, Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Ascitestumorzellen beim Trabtree-Effekt. Mit 4 Textabbildungen	481
MERKER, H.-J., H. GREILING und TH. GÜNTHER, Über das Vorkommen und die Bildung von Hyaluronsäure in Ascites-Tumorzellen. Mit 3 Textabbildungen	490
MERKER, H.-J., TH. GÜNTHER und H. GREILING, Elektronenoptische Untersuchungen zum Stoffwechsel des Glucosamins bei Ascites-Tumorzellen. Mit 1 Textabbildung	497

6. (Schluß-)Heft

(Abgeschlossen am 6. Oktober 1960)

STRÄULI, P., und G. HAEMMERLI, Über ein spontanes, transplantables lymphoreticulocytäres Sarkom des Goldhamsters. Mit 5 Textabbildungen	503
TSANEV, R., und G. G. MARKOV, Über die Veränderungen in den Nucleoproteiden bei den durch Benzpyren induzierten Hauttumoren. Mit 1 Textabbildung	511
BIERLING, R., Die Wirkung von Actinomycinen auf menschliche Gewebe in vitro. Mit 6 Textabbildungen	519
DANNENBERG, H., Über Beziehungen zwischen Steroiden und krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen. II. Mitteilung. 1:2-Cyclopentadieno-phenanthrene ²⁰	523
SCHMIDT, F., Zur heterologen Übertragung von Krebs- und Leukämiematerial des Menschen auf Laboratoriumstiere	532
POLLTER, J., Zur Frage des sog. „präinvasiven Adenocarcinoms der Appendix vermiformis“. Mit 4 Textabbildungen	540
SCRIBA, P., S. SCHNEIDER und H. HOLZER, Zur Wirkung von 2,5-Dimethoxy-äthoxy-3,6-bis-äthyleniminobenzochinon-1,4 (BAYER A 139) auf die Glykolyse von Ascites-Tumorzellen. Mit 4 Textabbildungen	547
KÖGL, F., C. SMAK, J. H. VEERKAMP und L. L. M. VAN DEENEN, Metabolism and functions of phosphatides. Investigations on the phosphatides of some experimental tumours. Mit 2 Textabbildungen	558
ENGELBART, K., Über ein neurofibromatöses Hamartoblastom der Leber. Mit 5 Textabbildungen	569
LANGSCH, H. G., und M. UHLIG, Carcinommetastasierung in verschiedenem Lebensalter.	575
WRBA, H., und M. RIPOLL-GÓMEZ, Zur Biologie des heterolog wachsenden Yoshida-Sarkoms (Stamm MY-RY). Mit 4 Textabbildungen	580
SCHMÄHL, D., und D. STEINHOFF, Versuche zur Krebs erzeugung mit kolloidalen Silber- und Goldlösungen an Ratten. Mit 3 Textabbildungen	586
FUCHS, U., und V. JUNG, Die Mitose-Rate von Cornea und Duodenum beim tumortragenden Tier. Mit 1 Textabbildung	592

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. H. HOLZER)

Zur Wirkung von 2,5-Dimethoxy-äthoxy-3,6-bis-äthyleniminobenzo- chinon-1,4 (BAYER A 139) auf die Glykolyse von Ascites-Tumorzellen* **

Von

P. SCRIBA, S. SCHNEIDER und H. HOLZER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Mai 1960)

A 139¹ hemmt wie andere carcinostatisch wirksame Äthyleniminverbindungen (ROITT 1956, HOLZER u. SEDLMAYER 1957) die Glykolyse von Ascites-Tumorzellen durch Senkung des DPN-Gehaltes (HOLZER, GLOGNER et al. 1958). Zusatz von 5 bis 10×10^{-3} Mole/l Nicotinsäureamid hebt die Glykolysehemmung auf (HOLZER, GLOGNER et al. 1958). Die DPN-Senkung könnte auf Grund unserer bisherigen Versuche (HOLZER, GLOGNER et al. 1958, HOLZER, KRÖGER et al. 1958, HOLZER u. KRÖGER 1958) durch Absinken des Gehaltes an Bausteinen der DPN-Synthese, durch Hemmung von Enzymen des DPN-Aufbaus oder durch Aktivierung von Enzymen des DPN-Abbaus zustande kommen. Zu dieser Frage prüften wir in der vorliegenden Arbeit den Gehalt der Asciteszellen an ATP sowie die Aktivitäten der Enzyme DPNase, DPN-Pyrophosphorylase, DPN-Pyrophosphatase und DPNH₂-Pyrophosphatase unter dem Einfluß von A 139. In einigen Versuchen wurde auch die carcinostatisch wirksame N-Lost-Verbindung Endoxan-Asta (= B 518) verwendet.

Methoden

1. *Tumorzellen.* Die Versuche wurden an einem Ehrlich-Ascites-Carcinom durchgeführt, das uns von Herrn Prof. Dr. O. WARBURG freundlicherweise überlassen wurde und dessen Eigenschaften wir früher beschrieben haben (HOLZER, GLOGNER et al. 1958, SCRIBA 1959).

2. *Manometrie.* Es wurde die übliche Technik der Manometrie mit der Warburg-Apparatur angewandt (vgl. HOLZER, GLOGNER et al. 1958). Die Inkubation von 30—50 mm³ Zellen/ml erfolgte in Krebs-Ringer-Bicarbonat-Lösung, die durch CO₂-Begasung auf ein p_H von 6,0 eingestellt wurde; die Temperatur war 37° C; Glucose wurde in 0,025 m Endkonzentration zugesetzt.

3. *DPN-Bestimmung.* Die DPN-Bestimmung erfolgte im optischen Test nach WARBURG, wie früher beschrieben (HOLZER, GLOGNER et al. 1958, SCRIBA 1959), oder mit der von KAPLAN u. Mitarb. (1951) angegebenen fluorometrischen Methode, wie von SCRIBA (1959) näher ausgeführt.

* Herrn Prof. Dr. KARL KRAUSPE zum 65. Geburtstag gewidmet.

** Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie (Fonds der Chemischen Industrie) danken wir für Sachbeihilfen. — Über die vorliegenden Versuche wurde von PETER SCRIBA vor der Freiburger Medizinischen Gesellschaft am 27. Januar 1959 vorgetragen. Kurzreferat: Klin. Wschr. **37**, 678 (1959).

¹ Abkürzungen: A 139, E 39 und B 518 siehe „Präparate“; ATP = Adenosintriphosphat; DPN = Diphosphopyridinnucleotid; DPNase = Diphosphopyridinnucleosidase; DPNH₂ = reduziertes DPN; NMNH₂ = reduziertes Nicotinsäureamidmononucleotid; NSA = Nicotinsäureamid; TCE = Trichloressigsäure.

4. *ATP-Bestimmung.* Die ATP-Bestimmung erfolgte im zusammengesetzten optischen Test mit 3-Phosphoglycerinsäure, DPNH_2 , Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase und Phosphoglycerinsäurekinase wie von THORN u. Mitarb. (1955) angegeben (vgl. auch BÜCHER u. Mitarb.) und von SCRIBA (1959) näher beschrieben.

5. *Enzymatisch-optischer DPNase-Test* (vgl. Abb. 2). Wir inkubierten in einer Küvette Alkohol, DPN und kristallisierte Alkoholdehydrogenase aus Hefe in solchen Konzentrationen, daß sich in wenigen Sekunden ein Gleichgewicht einstellte, bei dem das Verhältnis DPN zu DPNH_2 etwa 1:1 war. Setzte man nun Enzyme zu, die DPN zu Substanzen verändern, die nicht mehr mit Alkoholdehydrogenase reagieren, so wurde zur Erhaltung des Alkoholdehydrogenase-Gleichgewichts DPN aus DPNH_2 nachgeliefert. Die Geschwindigkeit der DPNH_2 -Abnahme ist ein Maß für die DPN-Spaltung. Setzte man NSA zu, so wurde der Anteil der DPNase an den DPN spaltenden Reaktionen gehemmt und damit als Differenz der Geschwindigkeit der Extinktionsabnahme vor und nach NSA-Zusatz meßbar. In der Legende zu Abb. 2 sind die von uns verwendeten Konzentrationen an Alkohol, DPN und Alkoholdehydrogenase angegeben. Aus der vollständigen Hemmung der DPNH_2 -Abnahme durch Zusatz von NSA bei Abb. 2 sieht man, daß bei diesem Versuch allein DPNase für die beobachtete Reaktion verantwortlich war.

6. *DPNH_2 -Pyrophosphatase* (vgl. Abb. 3 und 4).

a) *Prinzip.* DPNH_2 wurde mit Nieren- oder Tumorextrakten in Küvetten inkubiert. Die beobachtete Extinktionsabnahme bei $366\text{ m}\mu$ entspricht der Oxydation $\text{DPNH}_2 \rightarrow \text{DPN}$. Das gebildete DPN wurde in aus der Küvette entnommenen Proben, nach Abstoppen der Reaktion mit TCE, mit Alkohol und ADH bestimmt. Das in der Küvette, bei Variation der Inkubationsdauer, noch vorhandene DPNH_2 wurde mit Acetaldehyd und ADH bestimmt. Die proportional zur Inkubationszeit zu beobachtende Zunahme einer mit Acetaldehyd und ADH nicht zu beseitigenden Extinktion bei $366\text{ m}\mu$ in der Küvette entspricht der NMNH_2 -Bildung. Die Geschwindigkeit der NMNH_2 -Bildung ist ein Maß für die Aktivität der DPNH_2 -Pyrophosphatase.

b) *Ansätze und Versuchsdurchführung.* 0,5 g Niere oder Tumor wurden in 2,5 ml kaltem 0,2 m Trishydroxymethylaminomethan-HCl-Puffer pH 7,4 einige Sekunden homogeniert. Das Homogenat wurde einige Sekunden bei $1000 \times \text{g}$ und Zimmertemperatur zentrifugiert (die Erythrocyten verbleiben im Überstand). Das Sediment wurde in 2,5 ml kaltem 0,2 m Trishydroxymethylaminomethan-HCl-Puffer pH 7,4 gründlich homogeniert. Das Homogenat wurde 10 min bei $2500 \times \text{g}$ und 0°C zentrifugiert. Vom Überstand kamen 0,15 ml in einen Ansatz mit 0,05 m Trishydroxymethylaminomethan-HCl-Puffer pH 7,4, 0,017 m Mg SO_4 , 0,01 m KCN (zur Hemmung der DPNH_2 -Oxydation) mit oder ohne $1,78 \times 10^{-4}$ m A 139 (= 6 mg-%) in einem Endvolumen von 3,0 ml. Bei den Versuchen mit Tumorphomogenat wurde 0,191 m NSA zugesetzt, um die anwesende DPNase zu hemmen. Die Reaktion wurde mit enzymatisch reduziertem DPNH_2 gestartet (Endkonzentration $0,9 \times 10^{-3}$ m); Vorversuche hatten eine Reaktion zwischen A 139 und DPNH_2 ohne Zusatz von Homogenat ausgeschlossen. Die Inkubation erfolgte in temperierbaren Küvetten bei 37°C , Schichtdicke = 1 cm; gemessen wurde bei $366\text{ m}\mu$. Korrekturküvetten mit A 139 wurden vor die Testküvette ohne A 139 gesetzt, da die Extinktionsabnahme bei der DPNH_2 -Oxydation bei gleichem Ausgangswert gemessen werden muß. Zwei, 7 und 17 min nach dem Start wurden Proben aus den Küvetten entnommen. In den Proben wurde nach Abstoppen der Reaktion mit TCE (Endkonzentration 5%: hierdurch wird das enzymatisch reduzierte DPNH_2 vollständig zerstört) und Neutralisation des sauren Überstandes die DPN-Konzentration mit Alkohol und ADH bestimmt. Sofort nach Entnahme der Proben erfolgte die Bestimmung der DPNH_2 -Konzentration mit Acetaldehyd (Endkonzentration 0,005 m) und ADH, die direkt in die Küvette einpipettiert wurden. Die Konzentration des gebildeten NMNH_2 wurde aus der Zunahme der Extinktion bei $366\text{ m}\mu$ nach Oxydation des vorhandenen DPNH_2 mit Acetaldehyd und ADH mit dem von KORNBERG (1950) angegebenen, für DPNH_2 und NMNH_2 gleichen, molaren Absorptionskoeffizienten berechnet.

7. *DPN-Pyrophosphatase* (vgl. Legende zu Tabelle 3).

8. *DPN-Pyrophosphorylase* (vgl. Legende zu Tabelle 2).

Präparate

Von der Firma Bayer-Leverkusen wurden uns freundlicherweise die Substanzen E 39 (2,5-Di-n-propoxy-3,6-bisäthylenimino-benzochinon-1,4) und A 139 (2,5-Di-methoxy-äthoxy-3,6-bisäthylenimino-benzochinon-1,4) zur Verfügung gestellt. Wir möchten auch an dieser Stelle den Herren Prof. Dr. G. DOMACK und Dr. S. PETERSEN für die Überlassung der Präparate danken.

Von den ASTA-Werken erhielten wir das Präparat B 518 [N,N-Bis-(β -chloräthyl)-N',0-propylenphosphorsäureester-diamid].

Das Ba-Salz von 3-Phosphoglycerinsäure der Fa. Boehringer (Mannheim) wurde in 2 n HCl gelöst, Ba^{++} als $BaSO_4$ mit Na_2SO_4 ausgefällt und abzentrifugiert, der Überstand mit 2 n NaOH auf p_H 7,4 neutralisiert.

Zur Gewinnung von $DPNH_2$ wurde DPN der Fa. Boehringer (Mannheim) mit Natriumdithionit hydriert (vgl. BEISENHERZ, BOLTZE et al. 1953). Zur Bestimmung von $DPNH_2$ -Pyrophosphatase verwandten wir enzymatisch reduziertes $DPNH_2$ der Firma Sigma (USA).

80% reines DPN, kristallisierte Alkoholdehydrogenase aus Hefe, kristallisierte Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase und Phosphoglyceratkinase aus Kaninchenmuskel wurden von der Fa. Boehringer (Mannheim) bezogen.

Ergebnisse

1. ATP- und DPN-Gehalt von Ascites-Zellen bei der Glykolysehemmung durch A 139

Aus Abb. 1 sieht man, daß die Glykolyse von Ascites-Tumorzellen, die bei p_H 6 mit A 139 inkubiert wurden, zuerst aktiviert und dann intensiv gehemmt wird. Eine der Hemmung vorausgehende Aktivierung der Glykolyse durch carcinostatische Äthylenimin-Verbindungen haben wir schon früher beobachtet (HOLZER, KRÖGER et al. 1958, GRIMBERG 1960). Bis heute fanden wir jedoch keine Erklärung für dieses Phänomen. Die Glykolyse-Hemmung tritt erst ein, wenn der DPN-Gehalt der Asciteszellen auf etwa $\frac{1}{3}$ des Gehaltes von Kontrollen ohne A 139 abgesunken ist. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß in den Zellen überschüssiges DPN vorhanden ist, so daß noch $\frac{1}{3}$ des normalen Gehaltes für die volle Glykolyse ausreicht. Analysiert man (GRIMBERG 1960) zu einem Zeitpunkt, bei dem DPN auf $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{3}$ seines Anfangsgehaltes abgesunken ist, die Glykolyse jedoch noch mit voller Geschwindigkeit abläuft, die stationären Konzentrationen an Triose-Phosphaten, so findet man, daß ein Aufstau dieser phosphorylierten Intermediärprodukte der Glykolyse gegenüber Kontrollen ohne Carcinostaticum* stattgefunden hat. Wir nehmen an, daß sich sofort nach der Carcinostaticum-Einwirkung ein neuer stationärer Zustand einstellt, bei dem die Triosephosphatdehydrierung verlangsamende DPN-Mangel durch Erhöhung der Konzentration an Phosphoglycerinaldehyd (und dem damit im Gleichgewicht stehenden Dihydroxyacetonphosphat und Fructosediphosphat) kompensiert wird. Sinkt die DPN-Konzentration noch weiter ab, so kann die dadurch bewirkte weitere Verlangsamung der Triosephosphatdehydrierung nicht mehr durch den Aufstau an Triosephosphat kompensiert werden, da das Enzym bereits mit Triosephosphat gesättigt ist. Zu diesem Zeitpunkt beginnt die Hemmung der Glykolyse gegenüber Kontrollen ohne A 139.

Vergleicht man die zeitlichen Veränderungen des Gehaltes der mit A 139 inkubierten Ascites-Zellen an ATP und DPN, so sieht man, daß DPN bereits

* In diesen Versuchen wurde 1-Äthylenimino-2-hydroxy-buten-3 (= Tetramin, BASF/Merck) verwandt.

nach 40 min um 70—80% abgenommen hat, während bis dahin ATP nur geringfügig (um etwa 10—20%) abgefallen ist. Da auch in der Kontrolle ohne A 139,

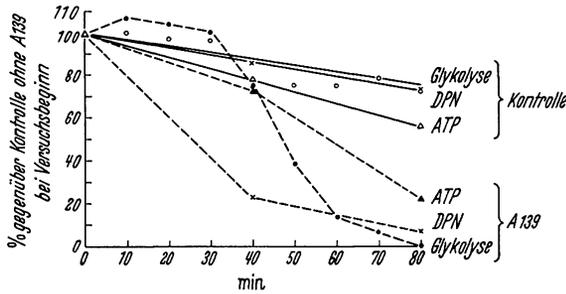


Abb. 1. Anaerobe Glykolyse und Gehalt von Asciteszellen an DPN und ATP mit und ohne 0,18 mMole/l A 139. Bei Versuchsbeginn: $Q_{\text{Lactat}}^{\text{CO}_2} = 12 \text{ mm}^3/\text{mg}$ Ascites-Trockengewicht; $2,4 \times 10^{-10}$ Mole DPN/ mm^3 Zellen; $11,8 \times 10^{-10}$ Mole ATP/ mm^3 Zellen

bei der nur ein geringes Absinken des DPN-Gehaltes zu beobachten ist, ATP um etwa 10—20% abgenommen hat, wird klar, daß ein Absinken des ATP-Gehaltes nicht die Ursache für das Absinken des DPN-Gehaltes sein kann. Sehr wahrscheinlich besteht der umgekehrte Zusammenhang: der ATP-Gehalt sinkt als Folge der durch DPN-Mangel bewirkten Glykolyse-Hemmung.

2. Beeinflussung von Enzymaktivitäten des DPN-Stoffwechsels durch A 139

a) *Diphosphopyridinnucleotidase (DPNase): DPN → NSA + Adenosindiphosphat*. Zur DPNase-Bestimmung haben wir einen optischen Test ausgearbeitet, der darauf beruht, daß DPNase aus einem durch überschüssig zugesetzte Alkoholdehydrogenase eingestellten Gleichgewicht an Alkohol, Acetaldehyd, DPN und DPNH_2 das DPN zu Nicotinsäureamid und dem Restbruchstück des DPN zerlegt und damit eine durch den stetig kleiner werdenden DPN-Gehalt ausgelöste Nachstellung des Alkoholdehydrogenase-Gleichgewichtes bewirkt, die zu einer Abnahme des DPNH_2 und damit der Extinktion bei 340 bzw. 366 $\text{m}\mu^1$ führt. Eine aus Rindermilz nach ZATMAN u. Mitarb. (1952) angereicherte DPNase bewirkt in unserem Test-System einen zeitlich konstanten Abfall der DPNH_2 -Konzentration (vgl. Abb. 2). Die Reaktion wird durch Zusatz von Nicotinsäureamid aufgehoben, wie man dies auf Grund der bekannten (ZATMAN, KAPLAN et al. 1952) Hemmung der DPNase durch Nicotinsäureamid erwarten muß. Kontrollversuche zeigten, daß die Geschwindigkeit der DPNH_2 -Abnahme in weiten Grenzen der zugesetzten DPNase-Menge proportional geht. Zum vorliegenden Problem sieht man aus Abb. 2, daß sowohl die Äthylenimin-Verbindung A 139 wie die N-Lost-Verbindung Endoxan ohne Einfluß auf die DPNase aus Rindermilz sind.

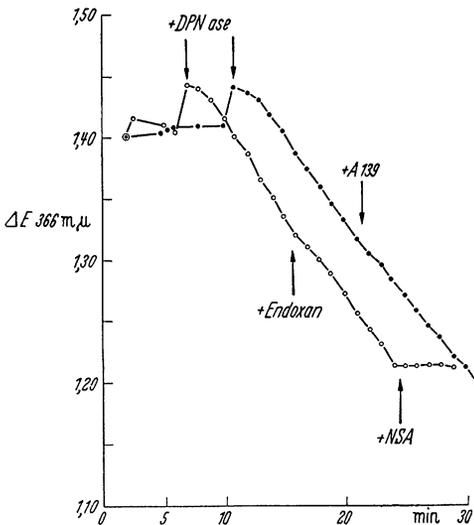


Abb. 2. Wirkung von A 139 und Endoxan auf eine Rindermilz angereicherte DPNase. Im Ansatz (Gesamtvolumen 2 ml, Schichtdicke 1 cm) befanden sich 1 mg DPN, 600 μg ADH und 0,032 ml absoluter Alkohol in 0,1 M Phosphatpuffer pH 8,0. Die Temperatur war 37° C. Der Start erfolgte mit DPNase (Anreicherung nach ZATMAN, KAPLAN et al. 1953), die Extinktionsabnahme wurde bei 366 $\text{m}\mu$ gemessen. A 139 und Endoxan wurden in 8 bzw. 125 mg-% Endkonzentration zugesetzt. Die Reaktion ließ sich mit NSA in 100 mg-% Endkonzentration völlig hemmen

1 Vgl. Fußnote im Abschnitt d.

Die Wirkung von Äthylenimin-Verbindungen auf den DPN-Gehalt von Organen zeigt beim lebenden Tier eine charakteristische Tumorspezifität. So fanden wir in Gehirn, Milz und Niere von Jensen-Sarkom tragenden Ratten keinen DPN-Abfall nach Verabreichung einer E 39-Dosis die im Tumor bereits einen beträchtlichen DPN-Abfall bewirkte (HOLZER und KRÖGER 1958). Wir studierten deshalb neben Milz-DPNase die DPNase-Aktivität von Extrakten aus Ascites-Tumorzellen. Man sieht aus Tabelle 1, daß die DPNase-Aktivität von Extrakten aus Ascites-Tumorzellen, die mit A 139 entweder bis zu gerade beginnender, oder auch bis zu weitgehender Glykolyse-Hemmung inkubiert waren, nicht mit Sicherheit beeinflußt wird. Die Bestimmung der DPNase erfolgte dabei in Inkubationsansätzen, in denen die DPN-Konzentration, nach Abstoppen der Reaktion, mit dem optischen Alkoholdehydrogenasetest oder mit der fluorometrischen DPN-Bestimmung (KAPLAN, COLOWICK et al. 1951, LOWRY, ROBERTS et al. 1957) gemessen wurde (vgl. Legende zu Tabelle 1). Diesen Versuchen zufolge kann eine Aktivierung der DPNase in Asciteszellen sehr wahrscheinlich nicht für den markanten Abfall des DPN-Gehaltes nach Inkubation mit A 139 verantwortlich gemacht werden. Wir müssen vorerst offen lassen, ob an der Wirkung von E 39 (eine Verbindung, die sich von A 139 nur minimal unterscheidet) auf das Jensen-Sarkom der Ratte im in vivo-Versuch eine DPNase-Aktivierung beteiligt ist, wie wir sie in früheren Versuchen beobachtet haben (HOLZER und KRÖGER 1958).

b) *DPN-Pyrophosphorylase: DPN + Pyrophosphat \rightarrow ATP + NMN.* Zur Bestimmung der DPN-Pyrophosphorylase-Aktivität in Ascites-Tumorzellen wurden Extrakte mit DPN, Pyrophosphat und Magnesiumchlorid inkubiert. Nach Abstoppen der Reaktion durch Kochen wurde mit dem optischen Alkoholdehydrogenase-Test der DPN-Gehalt bestimmt. Zusatz von Nicotinsäureamid hemmte die DPNase und durch Parallelmessung mit und ohne Pyrophosphat konnte die DPN-Spaltung durch DPN-Pyrophosphatase berücksichtigt werden. Wir fanden, daß Extrakte aus Asciteszellen neben einer hohen DPNase-Aktivität nur sehr geringe DPN-Pyrophosphorylase-Aktivität enthalten. Dies steht im Einklang mit Befunden von MORTON u. Mitarb. (BRANSTER und MORTON 1956, MORTON 1958), wonach Tumoren durch einen sehr geringen Gehalt an DPN-Pyrophosphorylase gekennzeichnet sind. Es gelang uns auf Grund dieser Situation nicht, genügend exakte Bestimmungen der DPN-Pyrophosphorylase-Aktivität in Ascites-Tumorzellen durchzuführen, wie sie für Messungen über die Beeinflussung dieses Enzyms durch A 139 notwendig gewesen wären.

Um ein für Messungen geeignetes Enzym-Präparat zu erhalten, wurde DPN-Pyrophosphorylase nach KORNBERG (1950) aus Schweineleber angereichert. In Tabelle 2 sind Versuche wiedergegeben, wonach 6 und 18 mg-% A 139 keinen oder nur geringen Einfluß auf die Aktivität des Enzyms haben. Die beobachteten Unterschiede zur Kontrolle liegen innerhalb der Fehlergrenze unserer Methode.

c) *DPN-Pyrophosphatase: DPN \rightarrow Adenosinmonophosphat + NMN.* Zur Bestimmung der DPN-Pyrophosphatase-Aktivität wurden Extrakte aus Jensen-Sarkom mit DPN inkubiert und von Zeit zu Zeit entnommene und abgestoppte Proben enzymatisch auf ihren DPN-Gehalt getestet. Zur Ausschaltung von DPNase wurde Nicotinsäureamid zugesetzt. Aus den in Tabelle 3 zusammengestellten Ergebnissen sieht man, daß weder A 139 in einer Konzentration, die den DPN-Gehalt von Ascites-Tumorzellen senkt und damit die Glykolyse hemmt,

Tabelle 1. *DPNase-Aktivität in Extrakten aus Ascites-Tumorzellen mit und ohne A 139*

Aus mehreren manometrischen Parallelansätzen wurden die Zellen 40 min nach Start der Glykolyse bei $1200 \times g$ abzentrifugiert, in 10 Volumen kaltem H_2O mit bzw. ohne A 139 suspendiert und dreimal im Thermostaten bei $-15^\circ C$ gefroren und bei $+37^\circ C$ wieder getaut. Im DPNase-Ansatz mit nachfolgender fluorometrischer DPN-Bestimmung (nach KAPLAN, COLOWICK et al. 1951 und LOWRY, ROBERTS et al. 1957) befand sich DPNase-Extrakt von 30 mm^3 Ascitezellen und $0,3 \mu$ Mole DPN bei $T=37^\circ C$ in einem Gesamtvolumen von 0,6 ml; gestoppt wurde mit TCE in 5% Endkonzentration. Im DPNase-Ansatz mit nachfolgender enzymatisch-optischer DPN-Bestimmung nach WARBURG befanden sich DPNase-Extrakte von 60 mm^3 Zellen und $0,3 \mu$ Mole DPN bei $T=37^\circ C$ in einem Gesamtvolumen von 3,0 ml. Gestoppt wurde durch Kochen, da die enzymatisch-optische DPN-Bestimmung nach Neutralisation des TCE-sauren Überstandes in Gegenwart von A 139 nicht möglich ist (vgl. SCRIBA 1959).

A 139 bei der Manometrie und im DPNase-Ansatz											
mg-%	—	6	—	6	—	6	18	—	6	—	6
Millimole/Liter	—	0,18	—	0,18	—	0,18	0,54	—	0,18	—	0,18
Eintritt der Glykolysehemmung in Parallelgefäßen (min nach dem Start)	—	80	—	90	—	90	nicht bestimmt	—	100	—	80
DPN-Gehalt der Zellen nach 40 min (Manometrie) in $\text{Mol} \times 10^{+10}$	2,81	0,74	3,23	2,27	2,22	1,02	< 0,2	2,96	1,95	3,18	1,54
Puffer des DPNase-Ansatzes	0,05 m Phosphat pH 7,2		0,067 m Phosphat pH 6,0		0,077 m Triäthanolamin/HCl pH 7,4						
Inkubationszeit in min	10		10		15		10		10		
Methode der DPN-Bestimmung nach Abstoppen der DPNase-Reaktion	Fluorometrisch				mit Alkohol und ADH (vgl. „Methoden“)						
Durch DPNase abgebaute μ Mole DPN	0,119	0,138	0,086	0,083	0,195	0,222	0,228	0,133	0,157	0,154	0,154
Aktivierung der DPNase in % gegenüber den Kontrollen	—	+ 16%	—	— 3%	—	+ 15%	+ 17%	—	+ 16%	—	$\pm 0\%$

noch die N-Lost-Verbindung Endoxan einen deutlichen Einfluß auf die DPN-Pyrophosphatase ausüben. Auch die DPN-Pyrophosphatase-Aktivität von Homogenaten aus Rattennieren wird nicht durch A 139 beeinflusst (SCHNEIDER).

Tabelle 2. *Wirkung von A 139 auf DPN-Pyrophosphorylase aus Schweineleber*

Im Ansatz befanden sich 0,59 μ Mole DPN in einem Gesamtvolumen von 3,0 ml; dazu $2,2 \times 10^{-3}$ m mit HCl neutralisiertes Pyrophosphat, $0,49 \times 10^{-3}$ m Mg Cl₂, 0,191 m NSA, 0,08 m Triäthanolamin/HCl-Puffer p_H 7,4. Der Start der Reaktion erfolgte mit 0,15 ml nach KORNBERG (1950) aus Schweineleber (ohne die angegebene Gel-Absorption) angereicherter DPN-Pyrophosphorylase. Der Stop der Reaktion erfolgte nach 15 min Inkubation bei 37°C durch 5 min Kochen im Wasserbad. Nach Zentrifugieren bei 6000 \times g wurde im Überstand mit der enzymatisch-optischen Methode DPN nach WARBURG bestimmt. Das dem Ansatz zugesetzte NSA hemmte die im Enzympräparat noch anwesende DPNase. Die Aktivität der DPN-Pyrophosphatase wurde durch Weglassen von Pyrophosphat aus dem Ansatz bestimmt. Durch Abzug der DPN-Pyrophosphatase-Aktivität von den mit Pyrophosphat erhaltenen Werten ergab sich die Aktivität der DPN-Pyrophosphorylase.

Konzentration an A 139 im DPN-Pyrophosphorylase-Ansatz	—	6 mg-%	18 mg-%
	—	0,18 m Mole/Liter	0,54 m Mole/Liter
Von DPN-Pyrophosphorylase abgebaute μ Mole DPN	0,206	0,183	0,189

Tabelle 3. *Wirkung von A 139 und Endoxan (= B 518) auf die DPN-Pyrophosphatase in einem Extrakt aus Jensen-Sarkom*

Methodik: DPN wurde in 0,04 m Trishydroxymethylaminomethan-HCl-Puffer p_H 7,5 mit 0,01 m MgSO₄ und 0,041 m NSA zusammen mit 0,1 ml Enzymextrakt, der durch Homogenisieren von 0,5 g Tumor bzw. Niere in 2,5 ml 0,2 m Trishydroxymethylaminomethan-HCl-Puffer p_H 7,5 im Potter-Elvehjem-Homogenisator gewonnen wurde, bei 37° C im Ansatz von einem Endvolumen von 2,0 ml inkubiert. Die Reaktion wurde durch TCE in 5% Endkonzentration gestoppt. Die DPN-Bestimmung erfolgte nach Neutralisation des sauren Überstandes mit dem optischen Test nach WARBURG.

Eingesetzte Mole DPN $\times 10^6$	Abgebaute Mole DPN $\times 10^6$ bei Inkubation von		ml Homogenat	Zugesetztes Carcinostatikum
	20 min	40 min		
1,55	—	—	—	—
1,55	0,095	0,195	0,1	—
1,55	0,19	0,363	0,2	—
1,55	0,082	0,17	0,1	125 mg-% B 518
1,55	1,135	0,20	0,1	8 mg-% A 139

d) *DPNH₂-Pyrophosphatase:* $DPNH_2 \rightarrow$ Adenosinmonophosphat + $NMNH_2$. $1,78 \times 10^{-4}$ Mole/Liter A 139 (6 mg-%) beschleunigen das Verschwinden von DPNH₂ (das mit Acetaldehyd und Alkoholdehydrogenase bestimmt wurde) durch ein Nierenhomogenat auf etwa das Doppelte gegenüber einer Kontrolle ohne A 139 (vgl. Abb. 3a). Wie die in Abb. 3 eingetragenen DPN-Analysen zeigen, führt der vermehrte Umsatz von DPNH₂ zu einer Anhäufung von DPN, d. h. A 139 bewirkt eine Beschleunigung der DPNH₂-Oxydation zu DPN. Um eine Spaltung von DPN durch DPNase zu verhindern, wurde bei diesen Versuchen Nicotinsäureamid zugesetzt; weiter befand sich KCN im Ansatz, um eine DPNH₂-Oxydation unter Mitwirkung des Atmungsfermentes zu verhindern.

Bei der Spaltung von DPNH_2 durch DPNH_2 -Pyrophosphatase entsteht hydriertes Nicotinsäureamidmononucleotid (NMNH_2). Da NMNH_2 im langwelligen UV dieselbe molare Lichtabsorption wie DPNH_2 aufweist, jedoch nicht im enzymatisch-optischen Test mit Alkoholdehydrogenase und Acetaldehyd reagiert, kann es als nicht mit Acetaldehyd und Alkoholdehydrogenase zu besetziger Lichtabsorption bei $366 \text{ m}\mu^1$ bestimmt werden. Die so erhaltenen Werte für NMNH_2 sind in den Abb. 3 b und 4 b eingetragen. Wie man sieht, hat A 139 keinen oder nur sehr geringen Einfluß auf die Bildung von NMNH_2 aus DPNH_2 , d. h. auf die DPNH_2 -Pyrophosphatase-Aktivität. Auch bei der Einwirkung von A 139 auf ein Homogenat aus Jensen-Sarkom ist kein deutlicher Einfluß auf die Bildungs-Geschwindigkeit von NMNH_2 aus DPNH_2 zu beobachten.

Diskussion

Die Beobachtung, daß Nicotinsäureamid das Absinken der DPN-Konzentration nach Einwirken von carcinostatischen Äthylenimin-Verbindungen auf Ascites-Tumorzellen verhindert (ROITT 1956, HOLZER u. SEDLMAYR 1957), sowie Studien über den Einbau von ^{14}C -markiertem Nicotinsäureamid (FRIEDRICH 1960) und von ^{14}C -Ribose (KRÖGER, ROTHAUWE, et al. 1960) in das DPN von Ascites-Tumorzellen sprechen für eine Beeinflussung von Enzymen des DPN-Stoffwechsels durch die Äthylenimin-Verbindungen. Sehr wahrscheinlich ist keines der vier in der vorliegenden Arbeit studierten Enzyme für den Abfall der DPN-Konzentration verantwortlich. Zwar haben wir bei der DPNase-Aktivität geringe Aktivierungen beobachtet (vgl. Tabelle 1) und in früheren Versuchen auch in vivo eine Aktivierung der DPNase gefunden (HOLZER u. KRÖGER 1958), jedoch ist dieser Effekt zu gering, um den schnellen Abfall der DPN-Konzentration in Ascites-Tumorzellen zu erklären. Auch der Befund von KRÖGER u. Mitarb. (1960), wonach sich nach Einwirkung von Äthylenimin-Verbindungen auf Ascites-Tumorzellen Nicotinsäureamid anstaut, kann nicht als Folge einer Aktivierung der DPNase erklärt werden, da DUNTZE (1960) Bedingungen fand, unter denen der Anstau an Nicotinsäureamid größer ist als der insgesamt in den Zellen vorhandene Gehalt an DPN. Wahrscheinlich stammt das sich aufstauende Nicotinsäureamid aus Tryptophan. Man kommt so zu folgender Arbeitshypothese für den Mechanismus der Wirkung von carcinostatischen Äthylenimin-Verbindungen auf die DPN-Konzentration in Tumoren: die Äthylenimin-Verbindungen hemmen eine Fermentreaktion, die am Einbau von Nicotinsäureamid oder Nicotinsäure in DPN beteiligt ist; dadurch wird das aus Tryptophan anfallende Nicotinsäureamid aufgestaut und, wie GRIMBERG (1960) beobachtet hat, in vermehrtem Umfange als N-Methylnicotinsäureamid im Urin ausgeschieden. Auf Grund der vorliegenden Versuche scheidet das an der DPN-Synthese beteiligte Enzym DPN-Pyrophosphorylase als durch Äthylenimin-Verbindungen gehemmtes Enzym aus. Unsere weiteren Bemühungen auf diesem Gebiet werden sich nun den Enzymen zuwenden müssen, die die Synthese von Nicotinsäureamid-mononucleotid bzw. Nicotinsäure-mononucleotid aus Nicotinsäureamid bzw. Nicotinsäure katalysieren.

¹ Wir messen, einem Vorschlag von BEISENHERZ, BOLTZE, BÜCHER u. Mitarb. (1953) folgend, mit Glasküvetten bei $366 \text{ m}\mu$, statt wie sonst üblich mit Quarzküvetten bei $340 \text{ m}\mu$.

Zusammenfassung

Nach Einwirkung der carcinostatischen Äthyleniminchinon-Verbindung A 139 auf glykolyisierende Ascites-Tumorzellen sinkt der DPN-Gehalt, bevor die Glykolysehemmung eintritt und der ATP-Gehalt absinkt. Ein Mangel an ATP kann demnach nicht die Ursache für das Abfallen des DPN-Gehaltes sein.

DPNase aus Rindermilz und aus Ascites-Tumorzellen, DPN-Pyrophosphorylase aus Schweineleber, DPN-Pyrophosphatase aus Jensen-Sarkom und DPNH_2 -Pyrophosphatase aus Rattenniere und Jensen-Sarkom werden durch die Äthyleniminchinon-Verbindung A 139 nicht oder nur sehr gering in ihrer Aktivität beeinflusst.

Die vorliegenden Versuche sprechen dafür, daß carcinostatische Äthylenimin-Verbindungen einen Reaktionsschritt der Biosynthese von DPN zwischen Nicotinsäureamid bzw. Nicotinsäure und Nicotinsäureamid-mononucleotid bzw. Nicotinsäure-mononucleotid hemmen.

Summary

Under the influence of the carcinostatic agent Bayer A-139, an ethyleneiminequinone, the concentration of DPN in glycolysing ascites tumor cells diminishes before the inhibition of the glycolysis appears and the concentration of ATP decreases. According to this the lack of ATP can not be the cause of the drop in the concentration of DPN. DPNase from beef spleen and from ascites tumor cells, DPN-pyrophosphorylase from hog liver, DPN-pyrophosphatase from the Jensensarcoma and DPNH_2 -pyrophosphatase from rat kidney and from the Jensensarcoma are influenced either not at all or only very little by the ethyleneiminequinone. From the experiments it may be concluded, that carcinostatic ethyleneimine-compounds inhibit a step in the reaction of the biosynthesis of DPN between nicotinamide, or nicotinic acid and nicotinamide-mononucleotide or nicotinic acid-mononucleotide.

Literatur

- BEISENHERZ, G., H. J. BOLTZE, TH. BÜCHER, R. CZOK, K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDT u. G. PFLEIDERER: Diphosphofruktose-Aldolase, Phosphoglyceraldehyd-Dehydrogenase, Milchsäure-Dehydrogenase, Glycerophosphat-Dehydrogenase und Pyruvat-Kinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang. *Z. Naturforsch.* 8b, 555 (1953).
- BRANSTER, M. V., and R. K. MORTON: Comparative rates of synthesis of diphosphopyridine nucleotide by normal and tumour tissue from mouse mammary gland: Studies with isolated nuclei. *Biochem. J.* 63, 640 (1956).
- BÜCHER, TH.: Unveröffentlichte Versuche.
- DUNTZE, W.: Diss. Medizinische Fakultät der Universität Freiburg i. Br. 1960.
- FRIEDRICH, G.: Diplomarbeit, Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität Freiburg i. Br. 1960.
- GRIMBERG, H.: Diss. Medizinische Fakultät der Universität Freiburg i. Br. 1960.
- HOLZER, H.: Kinetik und Thermodynamik enzymatischer Reaktionen in lebenden Zellen und Geweben. In: *Ergebnisse der medizinischen Grundlagenforschung*, Bd. I, S. 189. Stuttgart: Georg Thieme 1956.
- HOLZER, H., W. DUNTZE u. S. FRANK: Zum carcinostatischen Wirkungsmechanismus von Äthylenimin-Verbindungen: Alkylierung von Nicotinsäureamid am Pyridin-Stickstoff. *Angew. Chem.* 70, 746 (1958).
- HOLZER, H., u. S. FRANK: Manuskript in Vorbereitung.
- HOLZER, H., P. GLOGNER u. G. SEDLMAYER: Zum Mechanismus der Glykolysehemmung durch carcinostatisch wirkende Äthylenimin-Verbindungen. *Biochem. Z.* 330, 59 (1958).

- HOLZER, H., J. HAAN u. D. PETTE: Zusammenhang zwischen Wachstum und aerober Gärung. II. Wachstumshemmung des Ehrlichschen Mäuse-Ascites-Carcinoms mit Jodacetat. *Biochem. Z.* **327**, 195 (1955).
- HOLZER, H., J. HAAN u. S. SCHNEIDER: Zum Mechanismus des anaeroben Glucose- und Fructose-Abbaues im Mäuse-Ascites-Carcinom. *Biochem. Z.* **326**, 451 (1955).
- HOLZER, H., u. H. KRÖGER: Zum carcinostatistischen Wirkungsmechanismus von Äthylenimin-Verbindungen. *Biochem. Z.* **330**, 579 (1958).
- HOLZER, H., H. KRÖGER, P. SCRIBA, K. WALLENFELS u. W. DRABER: Carcinostatische Wirkung von Tetraäthyleniminobenzochinon. *Angew. Chem.* **70**, 439 (1958).
- KAPLAN, N. O., S. P. COLOWICK and C. C. BARNES: Effect of alkali on diphosphopyridine nucleotide. *J. biol. Chem.* **191**, 461 (1951).
- KORNBERG, A.: Reversible enzymatic synthesis of diphosphopyridine nucleotide and inorganic pyrophosphate. *J. biol. Chem.* **182**, 779 (1950).
- KORNBERG, A., and W. E. PRICER jr.: Nucleotide pyrophosphatase. *J. biol. Chem.* **182**, 763 (1950).
- KRÖGER, H., H. W. ROTTHAUWE, B. ULRICH u. H. HOLZER: Zum Einfluß von Carcinostatika auf den DPN-Stoffwechsel der Tumoren. I. Einbau von ¹⁴C-Ribose und ¹⁴C-Nicotinsäureamid in das DPN von Ascites-Zellen. II. Nachweis von DPN-Bausteinen in Ascites-Zellen. *Biochem. Z.* (im Druck).
- KRÖGER, H., B. ULRICH u. H. HOLZER: Wirkung carcinostatischer Verbindungen auf die Konzentration von Diphosphopyridinnucleotid in Tumoren. *Arzneimittel-Forsch.* **9**, 598 (1959).
- LOWRY, O. H., N. R. ROBERTS and J. I. KAPPAN: The fluorometric measurement of pyridine nucleotides. *J. biol. Chem.* **224**, 1047 (1957).
- MORTON, R. K.: Enzymic synthesis of coenzyme I in relation to chemical control of cell growth. *Nature (Lond.)* **181**, 540 (1958).
- ROITT, I. M.: The inhibition of carbohydrate metabolism in Ascites-Tumour-Cells by ethylenimines. *Biochem. J.* **63**, 300 (1956).
- SCHNEIDER, S.: Unveröffentlichte Versuche.
- SCRIBA, P.: Versuche zum biochemischen Wirkungsmechanismus von carcinostatisch wirkenden Äthylenimin-Verbindungen. Diss. Medizinische Fakultät der Universität Freiburg i. Br. 1959.
- SCRIBA, P., u. S. FRANK: Unveröffentlichte Versuche.
- THORN, W., G. PFLEIDERER, R. A. FROWEIN u. I. ROSS: Stoffwechselforgänge im Gehirn bei akuter Anoxie, akuter Ischämie und in der Erholung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **261**, 334 (1955).
- ZATMAN, L. J., N. O. KAPLAN and S. P. COLOWICK: Inhibition of spleen diphosphopyridine nucleotidase by nicotinamide, an exchange reaction. *J. biol. Chem.* **200**, 197 (1953).

Dr. P. SCRIBA, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Freiburg i. Br.