

## Antigene und Krebs \*)

Von Prof. Dr. F. MICHEEL / Aus dem organisch-chemischen Laboratorium der Universität Münster (Westf.)

Die Krebsforschung gehört zu den Gebieten der Medizin, die in zunehmendem Maße von der Seite der organischen Chemie her durchdrungen werden. Obwohl gerade über die bösartigen Geschwülste\*\*) in einem Ausmaß wissenschaftlich gearbeitet wird, wie es nur auf wenigen anderen Forschungsgebieten in vergleichbarem Maßstabe geschieht, so erweitern sich doch unsere grundsätzlichen Kenntnisse über das Wesen der Vorgänge, durch die Krebszellen vor normalen Zellen ausgezeichnet sind, nur langsam. Bösartige Geschwülste sind bekanntlich durch ihr autonomes, gegenüber normalem Gewebe destruierendes und infiltrierendes Wachstum ausgezeichnet. Ein besonders wichtiger und wesentlicher Punkt beim Aufbau des tierischen Gewebes ist die Synthese von Eiweiß. Die Überlegenheit der Krebszellen gegenüber den normalen äußert sich also in dieser Hinsicht als eine überlegene Fähigkeit im Eiweißaufbau. Da nun das stoffliche Angebot, wie es durch den Kreislauf zur Verfügung gestellt wird, für normale wie für Krebszellen das gleiche ist, so muß der Unterschied zwischen beiden in der Art der Verwertung dieser Stoffe liegen: Die Aufbauvorgänge müssen beim Krebsgewebe gegenüber normalem begünstigt sein. Zwar haben Vergleiche zwischen den eiweißaufbauenden Enzymen (Proteasen) aus normalem und aus Tumorgewebe bisher weder hinsichtlich ihrer Aktivität noch ihrer Menge grundsätzliche Unterschiede zwischen beiden ergeben<sup>1)</sup>, aber es handelt sich bei diesen Untersuchungen um die lösbareren Enzyme (Lyo-enzyme); über die zellgebundenen Proteasen (Desmo- und Endo-enzyme) ist zu wenig bekannt. Die Krebszelle ist in quantitativer und, wie aus den Untersuchungen von Kögl<sup>2)</sup> (vgl. unten) hervorgeht, in qualitativer Richtung zum Eiweißaufbau befähigter als die normale. Normales Eiweiß ist, wie wir insbes. durch die Untersuchungen von E. Fischer, Hofmeister u. a. wissen, aus Aminosäuren aufgebaut, und zwar gehören die Aminosäuren mit asymmetrischem C-Atom alle der L-Reihe an (E. Fischer<sup>3)</sup>, Karrer<sup>4)</sup> u. a.). Nur in gewissen Fällen finden sich d-Aminosäuren in der Natur, z. B. wenig in Pflanzeneiweißarten<sup>5)</sup> oder in bedeutenderen Mengen in der Kapselsubstanz der Milzbrandbazillen<sup>6)</sup>.



Kögl u. Erxleben zeigten, daß sich bei der sauren Hydrolyse aus dem Eiweiß verschiedener Tumortypen einige Aminosäuren, insbes. die Glutaminsäure, in der d-Form isolieren lassen. Es handelte sich natürlich um Aminosäuren, von denen feststand, daß sie in freier Form unter den Bedingungen der Hydrolyse nicht racemisiert werden<sup>7)</sup>. Die Isolierung der d-Formen der betreffenden Aminosäuren erfolgte als partiell racemisierte Präparat, da auch im Tumorgewebe die l-Aminosäuren überwiegen; der Gehalt an d-Form wurde aus dem Drehwert berechnet (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1. Aminosäuren aus menschlichem Ovarialcarcinom. (Kögl.)

	[α] <sub>D</sub> gef.	[α] <sub>D</sub> (l-Form)	% d-Form
Glutaminsäure .....	+ 4,6°	+ 31,7°	42,7
Leucin .....	+ 13,2°	+ 15,4°	7,2
Lysin .....	+ 13,5°	+ 14,6°	3,8
Oxy-glutaminsäure .....	+ 15,3°	+ 16,2°	3,1
Valin .....	+ 26,9°	+ 28,8°	3,3

\*) Vortragen auf der Vortragsveranstaltung des VDCh in Dresden am 5. April 1941.  
 \*\*) Zur Einführung des Chemikers in das Krebsproblem vgl. die später als Sonderdruck „Chemie und Krebs“ in dieser Ztschr. **53**, 337 ff. [1940], erschienene Aufsatzeriehe.  
 1) Krebs, Biochem. Z. **238**, 174 [1931]; Kleinmann u. Werr, ebenda **241**, 108 [1931]; Maschmann u. Helmert, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **216**, 161 [1933]; **218**, 142 [1933]; Z. Krebsforsch. **45**, 423 [1927].  
 2) Kögl, Erxleben u. Mitarb., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **258**, 57; **261**, 141, 154 [1939]; **263**, 107; **264**, 108 [1940]; Nature [London] **144**, 111 [1939].  
 3) E. Fischer u. Raské, Zusammenfassung in K. Freudenberg: Stereochemie. Leipzig u. Wien 1933, S. 682. 4) Karrer u. Mitarb., vgl. Anm. 3.  
 5) Z. B. Town, Nature [London] **145**, 313 [1940].  
 6) Ivánovics u. Brückner, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **247**, 281 [1937].  
 7) Vgl. dazu über die Racemisierung der Glutaminsäure, Arnou u. Öpahl, J. biol. Chemistry **133**, 765 [1940]; Johnson, ebenda **134**, 459 [1940].

Gegen diese Befunde sind von einer Reihe von Forschern Einwände erhoben worden<sup>8)</sup>, die fast alle von Kögl widerlegt werden konnten<sup>9)</sup>. Von anderen Seiten wurden die Kögl'schen Ergebnisse bestätigt<sup>10)</sup>. Kögl deutet seine Befunde so, daß die Zelle der Tumoren, im Gegensatz zur normalen Zelle, in der Lage ist, auch d-Aminosäuren in ihr Eiweiß einzubauen, und daß sie deshalb d-Proteasen enthalten muß. Sie erweist sich also damit in zweifacher Hinsicht gegenüber der normalen Zelle als im Vorteil: 1. vermag sie Bausteine zu verarbeiten, die für die normale Zelle ungeeignet sind; 2. besitzt sie infolge ihres Gehaltes an d-Aminosäuren eine besondere Resistenz gegenüber normalen Zellen, die nur l-Proteasen enthalten<sup>11)</sup>. Beides macht die Besonderheit des autonomen Wachstums verständlich.

Bei der Isolierung von d-Aminosäuren aus Tumorhydrolysaten ist die Frage, ob diese nicht während der Hydrolyse durch Racemisierung entstanden sein könnten und nicht als solche im Tumoreiweiß vorliegen, verhältnismäßig sehr wenig erörtert worden. Zwar werden die aus Tumoren z. T. als d-Form isolierten freien Aminosäuren, insbes. die Glutaminsäure<sup>7)</sup>, unter den Bedingungen der Hydrolyse nicht in einem Ausmaß racemisiert, daß die aus Tumormaterial gewonnenen Mengen an d-Form dem ihre Entstehung verdanken könnten. Andererseits ist die Racemisierungsgeschwindigkeit von peptidartig gebundenen Aminosäuren, analog z. B. der größeren Racemisierungsgeschwindigkeit von enolisierbaren Estern mit α-ständigen asymmetrischen C-Atom gegenüber den freien Säuren, größer als bei den freien Aminosäuren. Dakin<sup>12)</sup> hat davon Gebrauch gemacht, um feinere, mit anderen chemischen Mitteln nicht mehr nachweisbare Unterschiede zwischen nahe verwandten nativen Eiweißarten nachzuweisen.



Werden z. B. die Eieralbumine von Huhn und Ente mit verdünntem Alkali behandelt, so werden nur einige ihrer Aminosäuren mehr oder weniger racemisiert, wie sich nach der sauren Totalhydrolyse des Eiweißes zeigt. Es sind jedoch bei beiden Albuminen nicht immer die gleichen; dies beweist eine verschiedene Bindungsart der betreffenden Aminosäure in beiden (siehe Tab. 2).

Tabelle 2. Racemisierung von Eieralbumin. (Dakin.)

Aminosäure	Huhn	Ente
Alanin .....	—	—
Valin .....	+	+
Leucin .....	++	+
Prolin .....	++	++
Phenylalanin .....	+++	+++
Tyrosin .....	+++	+++
Asparaginsäure .....	++	++
Glutaminsäure .....	+++	+++
Histidin .....	++	+
Arginin .....	—	—
Lysin .....	++	++

Racemisierung: — nicht; + wenig; ++ stark; +++ vollständig.

Setzt man diese Befunde in Parallele zur Isolierung von d-Glutaminsäure aus Tumoreiweiß, so ergibt sich folgendes: Glutaminsäure, die in normalem Eiweiß eingebaut ist, wird durch Säure nicht racemisiert, wie die Isolierung der optisch reinen l-Form beweist. Da aus Tumoreiweiß eine partiell racemisierte Glutaminsäure (Überwiegen der l-Form) isoliert wird, so könnte diese aus reiner l-Form, die im Tumoreiweiß in einer auch durch

\*) Chibnall u. Mitarb., Nature [London] **144**, 71 [1939]; **145**, 311 [1940]; Biochemic. J. **34**, 285 [1940]; Graff, J. biol. Chemistry **130**, 13 [1939]; Dittmar, Z. Krebsforsch. **49**, 397, 441 [1939]; **50**, 472 [1940].

\*\*) Zu den mit schwerem Stickstoff N<sup>15</sup> erhaltenen Befunden von Graff, Rittenberg u. Foster, J. biol. Chemistry **133**, 745 [1940], liegt eine Stellungnahme von Kögl noch nicht vor.

10) White, J. biol. Chemistry **130**, 435 [1939]; Arnou u. Öpahl, Science [New York] **90**, 257 [1939].

11) Vgl. dazu Kögl u. Erxleben, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **284**, 108 [1940]; Bayerle, Biochem. Z. **303**, 251 [1939]; **305**, 226 [1940].

12) Dakin, J. biol. Chemistry **13**, 357 [1912]; Dakin u. Dudley, ebenda **15**, 263 [1913]; Dakin u. Dale, Biochemic. J. **13**, 248 [1919].

Säure schon racemisierbaren Bindungsform vorliegt, entstanden sein. Damit wäre der Unterschied zwischen Tumoreiweiß und normalem Eiweiß kein konfigurativer, sondern ein struktureller. Diese Möglichkeit wurde jedoch ausgeschlossen durch die Feststellung von Kögl u. Erxleben<sup>11)</sup>, daß ein Tumoreiweiß, das den Verdauungstrakt des Hundes z. T. unangegriffen passiert hat, mehr d-Glutaminsäure als l-Form enthält (vgl. dazu Bayerle<sup>11)</sup>).

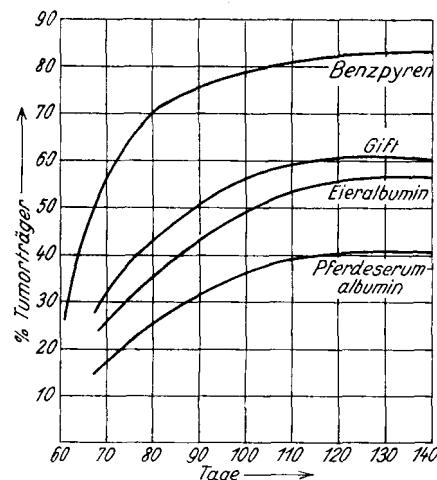
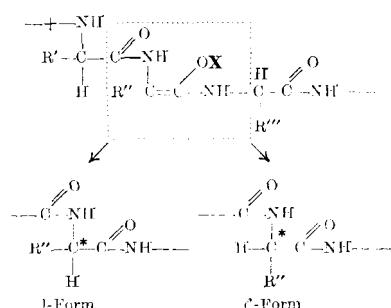


Abb. 1. Tumorentwicklung bei verschiedenen Antigengaben.

10–30 γ Antigen;  
Kontrolle 61 Tiere; Eieralbumin 72 Tiere;  
Gift (Naja tripusians) 22 Tiere; Serumalbumin 77 Tiere.

Eine weitere Möglichkeit der strukturellen Verschiedenheit von normalem und Tumoreiweiß, die das Auftreten verschieden großer Mengen d-Glutaminsäure (auch über 50%) zwanglos erklärt, wäre folgende: Glutaminsäurereste, in einer tautomeren Form ohne asymmetrisches C-Atom in eine Kette von normalen, asymmetrischen Aminosäuren eingebaut, würden bei der Hydrolyse des unbekannten Restes X (siehe die Formeln) zur Bildung von diastereomeren Peptidketten führen, in denen die d-Form der Glutaminsäure überwiegen oder völlig vorliegen könnte<sup>12)</sup>.



Es soll damit nicht gesagt werden, daß dies eine wahrscheinlichere Deutung der Befunde von Kögl ist; nach dem heutigen Stande unseres Wissens über den Aufbau des Eiweißes könnte man eher das Umgekehrte sagen. Andererseits ist unsere Kenntnis von der „Feinstruktur“ der Proteine noch nicht so eingehend, daß eine Atomanordnung, wie die angegebene, für das Tumoreiweiß als ausgeschlossen angesehen werden könnte. Solange dies der Fall ist, sollte man diese Möglichkeit nicht aus dem Auge verlieren.

In der Therapie der bösartigen Geschwülste haben wiederholt Schlangengifte mit wechselndem Erfolg Anwendung gefunden<sup>13)</sup>, und wir haben vom Jahre 1938 an eigene Versuche begonnen unter besonderer Berücksichtigung des Umstandes,

dass Schlangengifte starke Antigene sind. Die Befunde von Kögl (1939) lenkten die Aufmerksamkeit auf eine mögliche proteolytisch-enzymatische Überlegenheit des Tumorgewebes. Wir zogen deshalb auch andere Antigene in den Kreis der zu untersuchenden Stoffe, und es entwickelte sich folgende Arbeitshypothese:

Wenn Tumoren dem normalen Gewebe durch ihre Proteasen in qualitativer und (oder) quantitativer Hinsicht überlegen sind, so müßte eine Anregung oder Leistungssteigerung der Proteasen des normalen Gewebes die Unterschiede ausgleichen und dadurch Bildung und Wachstum von Tumoren behindert werden. Die Zufuhr von Antigenen in Form von körperfremdem Eiweiß muß nun diese Enzymsysteme in zwei Richtungen belasten und damit u. U. auch eine Leistungssteigerung bei ihnen hervorrufen: 1. das körperfremde Eiweiß muß abgebaut werden (Bildung von Abwehrfermenten); 2. es bilden sich Antikörper.

Zur Prüfung dieser Arbeitshypothese wurde die Bildung von Sarkomen (bösartigen Geschwülsten des Bindegewebes) durch Anlage eines subcutanen Benzpyren-Depots untersucht. Mäuse erhielten an der linken Körperseite ein Depot von 2 mg Benzpyren, einem der stärksten cancerogenen Kohlenwasserstoffe, in Olivenöl gelöst<sup>14)</sup>. Es wurde eine so große Dosierung

gewählt, weil Erfolge bei der Verhinderung der Krebsbildung bei starkem Reiz zur Tumorbildung höher zu bewerten sind als bei kleinem Reiz. Gleichzeitig wurde den Tieren in regelmäßigen Abständen das Antigen (Gift der indischen Cobra, Eieralbumin, Pferdeserumalbumin u. a.) subcutan verabfolgt, anfänglich zweimal, später einmal wöchentlich. Die Dosierung wurde sehr niedrig gewählt: zwischen 2 und 30 γ, also von der Größenordnung, wie sie sonst nur bei hochaktiven Wirkstoffen (Vitaminen, Hormonen, gewissen Alkaloiden) zum Erfolge

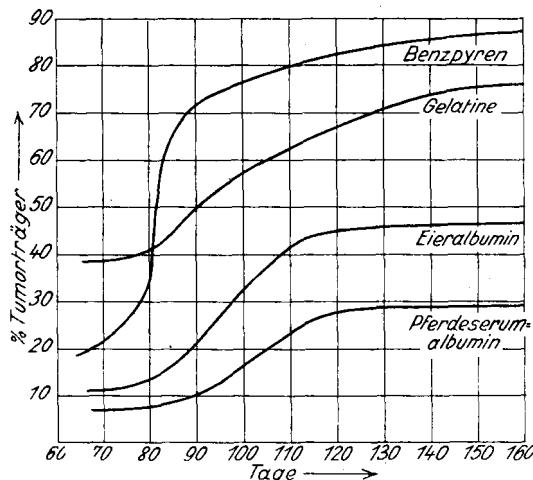


Abb. 2. Tumorentwicklung bei verschiedenen Antigengaben.

15 γ Antigen;  
Kontrolle 41 Tiere; Eieralbumin 42 Tiere;  
Gelatine 37 Tiere; Serumalbumin 53 Tiere.



Abb. 3. Maus (Kontrolle) mit Geschwulst.



Abb. 4. Maus (mit Antigen behandelt) ohne Sarkombildung.

führt. Die negativen Kontrolltiere erhielten natürlich kein Antigen.

Die Ergebnisse lassen sich am besten an Hand der Abb. 1 und 2 verstehen. (Die Auswertung der Versuchsreihen im einzelnen ist an anderer Stelle beschrieben worden<sup>14)</sup>). Versuchsreihen, bei denen durch intercurrente Erkrankungen größere Verluste an Tieren eintreten, werden am besten nicht zur Auswertung herangezogen. Bei Tieren, die lediglich ein Benzpyren-depot erhalten, bilden sich an der betreffenden Seite nach 60 bis 70 Tagen die ersten Tumoren. Nach 110–130 Tagen haben etwa 90% der Tiere (61) Geschwülste von zum größten Teil beträchtlicher Größe (Abb. 3). Bei den restlichen Tieren tritt die Sarkombildung noch später ein. Ganz anders ist das Ergebnis bei den Tieren, die Antigengaben erhalten. Die Zahl der Tiere, aus denen die Abb. 1 und 2 abgeleitet wurden, ist jeweils unter

<sup>12)</sup> Wir beschäftigen uns seit einiger Zeit mit orientierenden Versuchen, die darüber Auskunft geben können.  
<sup>13)</sup> Z. B. Laignel-Lavastine u. Koressios, Bull. Soc. chim. France [3] **49**, 274 [1933]; Taguet, C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. **198**, 880 [1930]; Calmette, ebenda **197**, 205 [1933]; Vellard, Penna u. Vianna, ebenda **193**, 502 [1934]; Grasset u. des Ligneris, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Assocées **116**, 386 [1934]; Julius, Chem. Ztbl. **1935** I, 2075; Lustig u. Werber, Z. Krebsforsch. **43**, 459 [1936]; Vannålt, Upsala Läkarefören. Förl. **42**, 315 [1936].

<sup>14)</sup> Einzelheiten s. Micheel u. Ende, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **286**, 249 [1940], und eine ebendort demnächst erscheinende Arbeit; dort auch weitere Literaturangaben.

den Abbildungen angegeben. Insgesamt wurden für bisher abgeschlossene Versuchsreihen mehr als 600 Tiere verwendet.

Abb. 1 zeigt eine Übersicht aller Versuchsreihen bei verschiedener Höhe der Antigengaben (10—30 γ, bei Schlangengift 2—4 γ). Bei Schlangengift, mit dem bisher verhältnismäßig wenige Tiere behandelt wurden, beträgt die Zahl der Tumorträger etwa 60%, bei Eieralbumin etwa 55% (72 Tiere), bei Pferdeserumalbumin etwa 40% (77 Tiere). Besonders günstig scheint für Eier- und Serumalbumin bei den bisherigen Dosierungen die Gabe von 15 γ zu sein (Abb. 2). Bei dieser tritt bei den mit Eieralbumin behandelten Tieren Sarkombildung nur bei etwa 45% (42 Tiere) der Tiere, bei Pferdeserumalbumin nur bei etwa 30% (53 Tiere) ein, bei letzterem in einer Versuchsreihe von 37 Tieren sogar nur bei weniger als 20% der Tiere. Die nicht von Sarkombildung betroffenen Tiere machen i. allg. einen normalen, gesunden Eindruck (Abb. 4) und sind frei von inneren Tumoren, wie die Untersuchung durch *Lasthaus* (Chirurgische Klinik der Universität Münster) ergab.

Diese Befunde sind an Tieren mit ungleichen Erbanlagen (Tiere aus der eigenen Zucht oder aus dem Handel) gewonnen. Unsere Ergebnisse an Reinzuchttieren, die in längerer Bruder-Schwester-Inzucht erhalten, im Besitze gleichartiger Erb-anlagen sind, sind noch nicht zum Abschluß gelangt.

Daß bei den zur Verwendung gekommenen Antigenen wirklich der Antigencharakter von entscheidender Bedeutung ist, zeigt die Anwendung der Gelatine. Gelatine gilt als Nicht-antigen<sup>15)</sup>. Sie hat jedoch wahrscheinlich noch in ganz geringem Maße antigene Eigenschaften, wie sich z. B. an Abbauprodukten zeigen läßt<sup>16)</sup>. Erhalten Mäuse mit Benzypyrendepot an Stelle der angeführten Antigene regelmäßige Gaben von Gelatine, so tritt nach den bisherigen Ergebnissen (37 Tiere) zu Anfang eine gewisse Beschleunigung der Sarkombildung ein (siehe weiter unten). Insgesamt bleibt die Zahl der Tumorträger (über 70%; 37 Tiere) jedoch hinter der betreffenden Zahl der Kontrollen zurück (Abb. 2), was mit schwach antigenen Eigenschaften der Gelatine zu erklären ist. Versuche an Eiweiß ohne antigenen Fähigkeiten sind noch nicht abgeschlossen.

Es ergibt sich somit als klares Bild, daß es gelingt, durch häufige kleine Gaben von Antigenen die Bildung von Tumoren in bedeutendem Maße zu unterbinden. Von besonderem Interesse ist nun, außer vielen anderen Problemen, die sich förmlich aufdrängen, die Untersuchung des Einflusses dieser Methodik auf Spontan- und auf Impftumoren. In dieser Richtung liegende Untersuchungen an Impftumoren werden durch *Hellner* und *Lasthaus* (Chirurgische Klinik der Universität Münster) ausgeführt.

Führt man mit *Kögl* die Überlegenheit bösartiger Geschwülste gegenüber normalem Gewebe auf deren Gehalt an d-Proteasen zurück, so ergäbe sich an Hand einer von *Lettre*<sup>17)</sup> geäußerten, bisher jedoch experimentell nicht belegten<sup>18)</sup> Hypothese folgende recht einfache Deutung für die Wirkungsweise der Antigene. Nach dieser Hypothese sollen die bei Antigenzufuhr im tierischen Organismus sich bildenden Antikörper z. T. aus d-Aminosäuren aufgebaut sein und die Antigen-Antikörper-(, Präcipitin“)-Reaktion eine Bildung partieller Racemate sein. Wenn dem so ist, so müßten zum Aufbau der Antikörper d-Proteasen vorhanden sein; die Zufuhr von Antigen würde also die Bildung von d-Proteasen anregen, also gerade der Proteasen, die nach den *Kögl*schen Überlegungen den normalen Zellen fehlen. Durch das Auftreten dieser d-Proteasen würde also die Unterlegenheit des normalen Organismus ausgeglichen und die anticancerogene Wirkung der Antigenzufuhr verständlich.

In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, daß sich nach *Waldschmidt-Leitz*<sup>19)</sup> im Blut Krebskranker d-Peptidasen (peptidspaltende Proteasen) finden. Eiweißspaltende Proteasen (Proteininasen) sind gewöhnlich im Blut nicht nachzuweisen, jedoch nach Antigenzufuhr die *Abderhaldenschen* Abwehrfermente. Den Befunden von *Waldschmidt-Leitz* stehen jedoch

<sup>15)</sup> *Wells*, J. Infect. Diseases **5**, 459 [1908].

<sup>16)</sup> *Toshio Mori*, J. Biochemistry **29**, 1 [1939] (Chem. Ztrbl. **1941** I, 219); vgl. auch Chem. Ztrbl. **1940** I, 719, 1683.

<sup>17)</sup> *Lettre*, diese Ztschr. **50**, 581 [1937].

<sup>18)</sup> Vgl. dazu *Coghill*, Science [New York] **89**, 535 [1939]; *H. E. Schultz*, Biochem. Z. **305**, 196 [1940].

<sup>19)</sup> *Waldschmidt-Leitz* u. Mitarb., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **262**, IV [1939]; **263**, 1 [1940]; **264**, 196 [1940]; vgl. a. diese Ztschr. **53**, 132 [1940].

solche von *Abderhalden*<sup>20)</sup>, *Bayerle*<sup>21)</sup> und v. *Euler*<sup>22)</sup> entgegen, die die Ergebnisse von *Waldschmidt-Leitz* nicht bestätigen oder z. T. auch in krebsfreien Menschen d-Peptidasen nachweisen konnten.

Unter den Methoden, die zur Hemmung bzw. Unterbindung des Tumorwachstums in der Literatur beschrieben werden, finden sich solche, bei denen Organextrakte, Tumorextrakte oder ähnliche eiweißhaltige Lösungen Verwendung finden<sup>23)</sup>. Vielfach liegt solchen Versuchen der Gedanke zugrunde, spezifisch zu immunisieren oder Effekte mit möglicherweise spezifisch anticancerogenen Stoffen aus Organen zu erzielen, die von Krebs gewöhnlich nicht befallen werden (Milz). Sehr häufig scheinen sich die Befunde verschiedener Forscher zu widersprechen. Auf der anderen Seite zeigte sich (*Reding*<sup>24)</sup>), daß regelmäßige Gaben größerer Mengen von artfremdem Eiweiß zu einer bedeutenden Steigerung des Auftretens von Spontantumoren führen.

Faßt man alle solche Befunde mit eiweißhaltigen Präparaten unter dem Gesichtswinkel zusammen, daß sie Antigene enthalten, so kommt man meist zu einer einheitlichen Deutung der Effekte, wenn man berücksichtigt, daß diese Eiweißstoffe bei ungeeigneter Dosierung auch stark schädigend wirken können. In der überwiegenden Zahl der Fälle mit Heilwirkung handelt es sich um wesentlich höhere Antigengaben als die von uns angewandten, die aber dann nicht so häufig gegeben wurden. So mag es sich erklären, daß bei günstiger Dosierung Heilerfolge zu verzeichnen sind, während diese bei zu hohen Gaben ausbleiben oder im umgekehrten Sinne ausschlagen können. Wir haben gewisse Anhaltspunkte dafür, daß sich selbst bei den von uns verwandten, sehr kleinen Antigengaben gewisse Schädigungen der Tiere mitunter nicht vermeiden lassen. Deutet schon das anfängliche erhöhte Auftreten von Tumoren bei den mit Gelatine behandelten Tieren darauf hin, so ist weiterhin zu beobachten, daß die bei Antigenzufuhr von Sarkomen frei bleibenden Tiere (die auch keine inneren Tumoren haben, siehe oben) trotz normalen Gewichts und äußerlich erkennbaren Wohlbefindens nach 5—6 Monaten eine erhöhte Sterblichkeit gegenüber unbehandelten Tieren zeigen. Es ist jedoch noch nicht geklärt, ob diese Sterblichkeit nicht etwa teilweise oder ganz auf das Benzypyren zurückzuführen ist. In der Auswahl und gegebenenfalls Synthese besonders geeigneter Antigene liegt hier, neben der optimalen Dosierung, eine besonders wichtige Aufgabe.

Es sei nun noch kurz auf eine von *Weichhardt*<sup>25)</sup> „unspezifische Therapie der Protoplasmaaktivierung“ genannte Therapie eingegangen, die mit Hilfe verschiedener, nicht spezifischer Agentien (Metalle, Eiweißabbauprodukte, Infektionen) Heilwirkungen am erkrankten Organismus erzielt und auch bei Tumoren Erfolge gezeigt hat<sup>26)</sup>. Der grundsätzliche Unterschied unserer Methodik gegenüber der „unspezifischen Therapie“ von *Weichhardt* besteht darin, daß bei letzterer Eiweißprodukte, z. T. sehr weitgehend abgebaute, zur Anwendung gelangen, die keine oder nur sehr schwache antigenen Eigenschaften haben<sup>27)</sup>, und daß die Theorie dieser Therapie antigenen Eigenschaften als Nebensächlich oder unerwünscht ansieht<sup>28)</sup>. Wenn *Lewin*<sup>26)</sup>, z. B. mit Caseosan, einem Caseinpräparat mit sehr schwachen antigenen Eigenschaften<sup>28)</sup>, günstige Effekte bei der Beeinflussung von Impftumoren mit Gaben, die mehrhundertfach so groß wie die unsrigen sind, erzielte, so ist dies eher in dem Sinne zu verstehen, daß das Caseosan in großen Dosen als Antigen im Sinne unserer Beobachtungen wirksam ist. Zu erwähnen ist ferner die „Proteinkörpertherapie“ von *R. Schmidt*<sup>29)</sup>. Es würde hier jedoch zu weit führen, Zusammenhänge und Abgrenzungen zu erörtern.

Bei unseren Ergebnissen der Beeinflussung von Experimentaltumoren ist die Frage bedeutsam, ob und inwieweit

<sup>20)</sup> E. u. R. *Abderhalden*, ebenda **265**, 253 [1940].

<sup>21)</sup> *Bayerle* u. *Podlucky*, ebenda **284**, 189 [1940]; Biochem. Z. **304**, 259 [1940]; Z. Krebsforsch. **50**, 220 [1940].

<sup>22)</sup> v. *Euler* u. Mitarb., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **265**, 133 [1940]; Z. Krebsforsch. **50**, 552 [1940]; **51**, 249 [1941].

<sup>23)</sup> Wegen des großen Umfangs der Literatur sei hier darauf verzichtet, etwas anzuführen.

<sup>24)</sup> *Reding*, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Assocées **133**, 450 [1940]; die Mengen lassen sich aus diesen Angaben nur schätzen, sind aber sicher größer als die von uns angewandten.

<sup>25)</sup> Zusammenfassung in *Weichhardt*: Die unspezifische Therapie, Berlin 1936.

<sup>26)</sup> *Lewin*, Ergeb. Hyg. **8**, 623 [1926].

<sup>27)</sup> Vgl. z. B. *Weichhardt*, Münchener med. Wschr. **66**, 291 [1909].

<sup>28)</sup> Vgl. z. B. *Weichhardt*, Ann. 27; *Gildemeister* u. *Seiffert*, Berliner klin. Wschr. **58**, 629 [1921].

<sup>29)</sup> Zusammenfassung: *Kaznelson*, Ergeb. Hyg. **4**, 249 [1920].

die den Versuchen zugrunde liegende Arbeitshypothese, im Verein mit anderen Ergebnissen (d-Aminosäuregehalt, d-Peptidaser) geeignet ist, unsere Vorstellungen über das Wesen der malignen Entartung des normalen Gewebes zu klären. Letztere hat in den meisten Fällen ihre eigentliche Ursache in einer somatischen (stofflichen) Veränderung der Erbanlagen (Gene). Solange wir nichts Genaueres über die chemische Struktur der Gene wissen, müssen sich notwendigerweise alle For-

schungsarbeiten in einem unbekannten, mehr oder minder großen Abstand um den eigentlichen Kern der Krebsursache bewegen.

Es ist ferner zu berücksichtigen, daß neben Anomalien des Eiweißaufbaus und -abbaus auch andere Vorgänge im Tumor vom normalen Organismus abweichend verlaufen (Glykolyse, Oxydation-Reduktion), von denen nicht genauer bekannt ist, inwieweit sie mit dem Eiweißaufbau und -abbau gekoppelt sind.

Eingeg. 10. Mai 1941. [A 27.]

## Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie

### 14. Das Borfluorid als Katalysator bei chemischen Reaktionen

Von Dr. D. KÄSTNER,

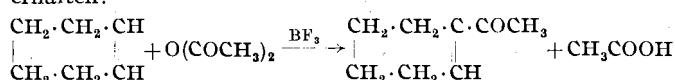
I. G. Farbenindustrie A.-G. Uerdingen (Niederrhein)

#### 7. Die Ketonisierung der aromatischen Kohlenwasserstoffe, der Olefine, Phenole, Phenoläther und Phenylester. Die Sulfonierung und Nitrierung aromatischer Verbindungen.

Ebenso wie mit Aluminiumchlorid lassen sich auch mit Borfluorid echte Fried-Craftsche Reaktionen durchführen. Aus Benzol bzw. Toluol wird mit Essigsäureanhydrid und Borfluorid, wenn auch nicht so glatt wie mit Aluminiumchlorid, Acetophenon in 13,7%iger Ausbeute bzw. p-Methoxy-acetophenon in 70,9%iger Ausbeute gebildet<sup>54, 86</sup>). Mit noch höherer Ausbeute von 95% entsteht aus Anisol und Essigsäureanhydrid mittels Borfluorid p-Methoxy-acetophenon<sup>54, 86, 87</sup>). Ebenso wird aus Phthalsäureanhydrid, Resorcin und Borfluorid durch Kochen in benzolischer Lösung Fluorescein in fast theoretischer Ausbeute und aus Phthalsäureanhydrid, Phenol und Borfluorid Phenolphthalein in 72%iger Ausbeute erhalten. Die Kondensationen werden durch Zusatz von Flußsäure nicht beschleunigt<sup>86</sup>), während die Wirksamkeit des Aluminiumchlorids durch Salzsäure erhöht wird.

Dimethylanilin läßt sich mit Essigsäureanhydrid, ebenso wie mit den Olefinen, und Borfluorid nicht kondensieren, da auch hierbei die Bildungstendenz des Borfluorid-Dimethyl-anilins zu groß ist<sup>86</sup>).

Dagegen wird aus Cyclohexen mit Essigsäureanhydrid und Borfluorid 2-Aceto-cyclohexen in 27%iger Ausbeute erhalten:



In gleicher Weise reagieren auch Diisobutylen, Isonylen, Isododecylen mit Essigsäureanhydrid und Borfluorid oder Borfluoriddihydrat unter Bildung der  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Ketone<sup>88</sup>). Die Kondensationen werden bei 0° bis Zimmertemperatur durchgeführt; sie benötigen molare Mengen Borfluorid, da durch die entstehenden Ketone das Borfluorid gebunden und daher für weitere Kondensationsreaktionen unwirksam wird.

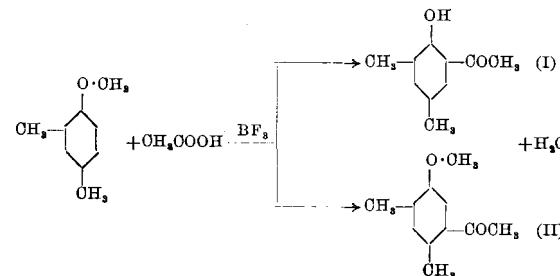
Das Borfluorid hat bei diesen Kondensationen gegenüber den üblichen Katalysatoren wie Aluminiumchlorid und Zinkchlorid keinen besonderen Vorteil, da als Nebenreaktion die noch zu beschreibende Selbstkondensation des Essigsäureanhydrids verläuft.

Die Darstellung der Ketone läßt sich aber viel einfacher erreichen, wenn man in Lösungen von Phenolen<sup>54, 89</sup>) bzw. Phenoläthern<sup>89</sup>) in der doppelt molaren Menge einer Fettsäure Borfluorid bis zur Sättigung einleitet, daran anschließend 1½–2 h auf ~70° erwärmt und das erhaltene Reaktionsgemisch mittels Natriumacetat zersetzt.

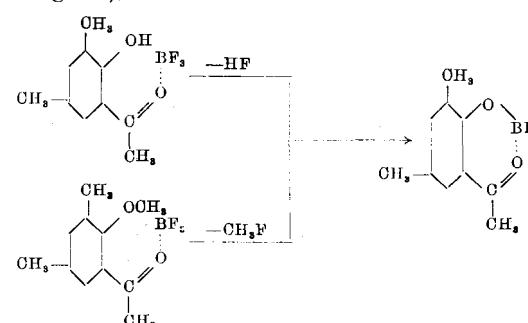
Aus Phenol und Eisessig werden hierbei in 91%iger Ausbeute p-Oxy-acetophenon neben 5,9% o-Oxy-acetophenon, aus Phenol und Propionsäure 83,7% p-Oxy-propiophenon neben 8,7% o-Oxy-propiophenon, aus as. m-Xylenol und Eisessig 97,0% o-Aceto-as.m-xylenol (I), aus Anisol und Eisessig 90,6% p-Methoxy-acetophenon, aus as.m-Xylenyl-methyläther und Eisessig in allerdings

(Fortsetzung von S. 281 und Schluß)

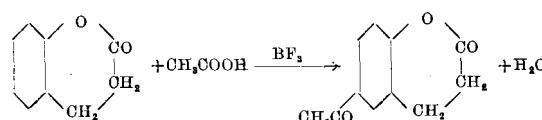
16stündiger Reaktionsdauer 48,5% o-Aceto-as.m-xylenol (I) neben 21,5% m-Aceto-as.m-xylenyl-methyläther (II) erhalten. Letzterer Reaktion liegt folgende Reaktionsgleichung zugrunde:



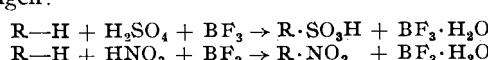
Bei allen diesen Kondensationen mit Borfluorid als Katalysator wird kein Fluorwasserstoff bzw. Methylfluorid beobachtet<sup>54, 89</sup>), wenn die Ketogruppe in p- oder m-Stellung in den Kern tritt. Hierdurch unterscheiden sich die Borfluoridsynthesen von den Aluminiumchloridsynthesen, da bei letzteren Phenole und Phenolketone mit Aluminiumchlorid unter Abspaltung von Chlorwasserstoff reagieren und Phenoläther leicht verseift werden. Lediglich wenn die Ketogruppe in o-Stellung zur OH- bzw. OCH<sub>3</sub>-Gruppe eintritt, wird auch bei Verwendung von Borfluorid als Katalysator schon bei tiefer Temperatur Fluorwasserstoff bzw. Methylfluorid abgespalten, und es entstehen sehr stabile, innerkomplexe BF<sub>2</sub>-Verbindungen<sup>89</sup>), z. B.:



Schwieriger als die Phenole und Phenoläther werden die Phenylester durch Essigsäure mittels Borfluorid als Katalysator im Kern acetyliert. Das 3,4-Dihydro-cumarin liefert unter den gleichen Reaktionsbedingungen, unter denen Anisol in hoher Ausbeute p-Methoxy-acetophenon liefert, nur in einer Ausbeute von 1,8% das 6-Aceto-hydrocumarin<sup>89</sup>):



Das Borfluorid ist weiterhin als wirksamer Katalysator zur Sulfonierung und Nitrierung aromatischer Verbindungen benutzt worden<sup>90</sup>), da das bei diesen Reaktionen entstehende Wasser als Borfluoridhydrat gebunden wird, gemäß folgenden Gleichungen:



<sup>54</sup>) R. J. Thomas, W. F. Ancilotti u. G. P. Hennion, Ind. Engng. Chem. 32, 408 [1940].

<sup>55</sup>) H. Meerwein u. D. Vossen, J. prakt. Chem. [2] 141, 149 [1934].

<sup>56</sup>) H. Meier-Häser Diss. Marburg 1933, S. 27.

<sup>57</sup>) I. G. Farbenindustrie A.-G., unveröffentlichte Versuche; s. a. u. I. G. Farbenindustrie A.-G., Amer. Pat. 2210837.

<sup>58</sup>) D. Kästner, Diss. Marburg 1937.