

247. Emil Abderhalden: Über das optische Verhalten der im Eiweiß von Carcinom und seinen Metastasen und dem Muttergewebe enthaltenen Glutaminsäure.

[Aus d. Physiol. Institut d. Universität Hall-/S.]

(Eingegangen am 19. November 1942.)

Die Feststellung von F. Kögl und H. Erxleben, wonach in Tumorzellen enthaltenes Eiweiß Aminosäuren aufweist, die nicht der *l*-Reihe angehören, hat dem gesamten Tumorproblem und insbesondere dem des Carcinoms eine vollständig neue Beleuchtung gegeben. Zum ersten Male ist die Vorstellung zum Ausdruck gebracht worden, daß das eigenartige morphologische und biologische Verhalten der Tumorzelle durch ihren Gehalt an Eiweißstoffen bedingt sein könnte, die in ihrer Gesamtkonfiguration von solchen normaler Zellen abweichen. Es wäre von dieser Annahme aus die vollständige Fremdheit der Tumorzelle gegenüber den übrigen Zellen des Organismus verständlich. Bei der Wichtigkeit des in Frage stehenden Problems war es geboten, an einem möglichst großen Material zu prüfen, ob eine allgemeine Gesetzmäßigkeit im Aufbau von Tumoreiweißstoffen vorliegt. Es sind in rascher Folge Arbeiten erschienen, in denen die Befunde der genannten Forscher teils bestätigt wurden, teils wurden *d*-Aminosäuren vermißt. Da diejenigen, die negative Ergebnisse erzielt hatten, z. Tl. die Beobachtung von Emil Fischer nicht berücksichtigt hatten, wonach *d*, *l*-Glutaminsäure, auf die zumeist gefahndet wurde, in Salzsäure leichter löslich ist als die optisch-aktive Form, waren ihre Ergebnisse unwerthbar. Eine eigene umfassende Nachprüfung¹⁾ ergab einwandfrei, daß es Carcinome gibt, die bei der Hydrolyse ausschließlich *l*-Glutaminsäure liefern. Die *d*, *l*-Form konnte der Beobachtung nicht entgangen sein. Einerseits war nämlich die Gesamtausbeute an Glutaminsäure eine recht hohe, ferner waren sämtliche Mutterlaugen peinlich genau gesammelt worden. Schließlich wurde mit Hilfe der Estermethode noch in ihr vorhandene Glutaminsäure isoliert.

In einer weiteren Untersuchung hatten wir Gelegenheit, ein Magencarcinom auf Glutaminsäure zu untersuchen. Gleichzeitig wurde der Mutterboden der Geschwulst, nämlich die Magenwand auf dieselbe Aminosäure untersucht. Weiterhin wurden von dem primären Tumor ausgehende Metastasen in der Leber und zugleich Lebergewebe, das sich in der Umgebung der Metastasen befand, der Hydrolyse unterworfen. In allen Fällen wurde diese durch 6-stdg. Kochen am Rückflußkühler mit der 3-fachen Menge Salzsäure²⁾ herbeigeführt und anschließend nach der in der oben erwähnten Arbeit eingehend geschilderten Methode das salzsaure Salz der Glutaminsäure abgeschieden. Mit besonderer Sorgfalt wurde auf die Entfernung aller anorganischen Bestandteile geachtet. Es bewährte sich ihre Abscheidung durch Übergießen des zur Trockne eingedampften Hydrolysats mit Alkohol und Einleiten von Chlorwasserstoff in diesen. Anschließend wurde noch am Rückflußkühler etwa 2 Stdn. gekocht. Alle anorganischen Bestandteile wurden hierauf durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde zur Trockne verdampft. Durch 2-stdg. Kochen mit 20-proz. Salzsäure wurden dann aus den Aminosäureestern wiederum die salzsauren Aminosäuren hergestellt.

¹⁾ Ztschr. physiol. Chem. **275**, 135 [1942]; hier finden sich Literaturangaben.

²⁾ Nach Auflösen der Gewebe in 20-proz. Salzsäure auf dem Wasserbad wurde das Hydrolysat mit Chlorwasserstoff gesättigt. Anschließend erfolgte das Kochen am Rückflußkühler.

Die ersten Abscheidungen von salzsaurem Glutaminsäure waren einheitlich. Die nachfolgenden erforderten in der Regel mehrfache Umkrystallisation. Die Mutterlaugen der einzelnen Abscheidungen wurden jeweils vereinigt und für sich unter Einengen weiter verarbeitet. Die Reinheit der erhaltenen Krystallfraktionen wurde durch eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl und die Feststellung der spezifischen Drehung kontrolliert. Erwies sich das isolierte Produkt als einheitlich, dann wurden C- und H-Bestimmungen durchgeführt. Was nach Auskrystallisieren der salzsauren Glutaminsäure noch an Mutterlaugen übrig blieb, wurde nach der Estermethode von Emil Fischer aufgearbeitet. Wenn auch mit Hilfe dieser keine quantitative Ausbeute an Glutaminsäure zu erwarten war, so wurde doch erreicht, daß mindestens 50% davon in vollkommen reiner Form gewonnen werden konnten. Wäre *d, l*-Glutaminsäure in den letzten vereinigten Mutterlaugen zugegen gewesen, dann hätte man sie auf diesem Wege sicher aufgefunden.

Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tafel wiedergegeben. Sie sind auf je 100 g Eiweiß berechnet. Der Eiweißgehalt wurde, wie üblich, durch Multiplikation des Stickstoffgehalts des Hydrolysats mit 6.25 berechnet. Angewandt wurden 400 g Magencarcinom, 750 g Leber-Metastasen, 250 g Magenwand und 500 g Leber (alles Frischgewichte). Die Ausbeuten an *l*(+)-Glutaminsäure betrugen: Magencarcinom 11.2%, Lebermetastasen 10.2%, normale Magenwand 10.8% und normales Lebergewebe 10.3%.

Tafel.

1) Magencarcinom.

Krystallfrakt.	C	H	N	$[\alpha]_{18-20}^{\circ}$
1—4*)	32.80	5.85	7.68	+31.45°
5 und 6*) . .	32.88	5.70	7.72	+31.30°
7	32.54	5.48	7.69	+31.25°
8	32.58	5.43	7.68	+31.12°
9	32.41	5.52	7.63	+31.68°
10	32.34	5.59	7.67	+30.80°

2) Magenwand.

1—3*)	32.70	5.43	7.56	+31.68°
4 und 5 . . .	32.59	5.51	7.46	+31.85°
6	32.70	5.48	7.74	+30.98°
7	32.39	5.54	7.83	+30.85°
8	32.85	5.50	7.65	+30.62°

3) Lebermetastasen.

1—4*)	32.64	5.54	7.67	+31.45°
5—7*)	32.79	5.65	7.48	+31.82°
8	32.63	5.56	7.58	+30.75°
9	32.65	5.67	7.81	+30.98°

4) Leber.

1—3*)	32.61	5.38	7.63	+31.25°
4—6*)	32.67	5.72	7.65	+31.78°
7	32.63	5.63	7.79	+31.00°
8	32.60	5.60	7.81	+30.92°

Berechnet für salzsaure Glutaminsäure 32.70% C, 5.50% H und 7.64% N.

*) Zur Analyse wurden mehrere Krystallisationen vereinigt.

Ausgeführt von Rudi Martin, Mikroanalytiker des Chemischen Instituts der Universität Leipzig.

Ein Blick auf die erhobenen Befunde zeigt, daß weder das Eiweiß des primären Tumors, noch das der Metastasen *d*-Glutaminsäure enthielt. Hierzu ist zu bemerken, daß wir verschiedentlich bei der Hydrolyse von Tumoreiweiß in Bestätigung der Befunde von Kögl und Erxleben *d, l*-Glutaminsäure nachweisen konnten, jedoch blieb die Ausbeute an dieser ganz erheblich hinter der der genannten Forscher zurück. Für die Beantwortung der Frage, ob die von Kögl entwickelten Anschauungen bezüglich der biologischen Sonderstellung der Carcinomzelle zutreffend sind, ist entscheidend, daß es ohne Zweifel Carcinome und auch andere Tumoren gibt, die keine *d*-Glutaminsäure enthalten. Schon ein einzelner Fall dieser Art genügt, um darzutun, daß zum Wesen der Bösartigkeit der Carcinomzelle nicht eine *d*-Konfiguration des in ihr enthaltenen Eiweißes gehört. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß kürzlich Th. Wieland³⁾ unter Anwendung einer anderen Methode (Verwendung der sauren Al_2O_3 -Säule zur Adsorption der Amino-dicarbonsäuren) ebenfalls keine *d*-Glutaminsäure nachweisen konnte. Er hydrolysierte Proteine von 5 Impftumoren verschiedener Tierarten.

248. Kurt Hess und Karl E. Heumann: Über Feinstvermahlung verholzter Zellwände und die Reaktionsfähigkeit des Lignins mit Hydrazin.

[Aus d. Forschungsinstitut Hess im Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 16. November 1942.)

1) Einleitung.

Trotz vielseitiger Bemühungen, den Ligninkomplex aus dem Zellwandverband schonend und vollständig abzutrennen, ist kein Verfahren bekanntgeworden, bei dem der teilweise oder vollständige Verlust von funktionellen Gruppen ausgeschlossen wäre, die für das ursprünglich vorhandene Lignin typisch sind. Entsprechend muß bei den bisher verwendeten Ligninpräparaten mit der Möglichkeit einer Bildung von Atomgruppierungen durch Wirkung der Aufschlußmittel gerechnet werden, die den natürlichen Zustand des Lignins in der Wand nicht mehr wiedergeben. Von Darstellungsverfahren, bei denen auf diese Unsicherheit mit größerem Erfolge als bisher Rücksicht genommen wird, muß eine entscheidende Förderung der Erkenntnis der chemischen Konstitution des Lignins erwartet werden.

Für einen neuen Weg zur Abtrennung von Lignin, über den im folgenden berichtet wird, waren folgende Behauptungen richtungsweisend:

a) Der gegenüber den isolierten Präparaten reaktionsfähigere Zustand des Lignins *in vivo* ist durch die Anwesenheit reaktionsfähiger Gruppen (Aldehyd-, Keto- oder OH-Gruppen) bedingt, die im Verlaufe der bisher üblichen Isolierungsverfahren (Einwirkung von Säuren oder Alkalien niedrigerer oder höherer Konzentration) teilweise oder ganz abreagieren und zu Präparaten führen, die sich in Konstitution und Eigenschaften nicht graduell, sondern grundsätzlich vom ursprünglichen Lignin unterscheiden.

b) Das ursprüngliche Lignin ist infolge der natürlichen Wandentwicklung von Cellulose und den begleitenden Kohlenhydraten umschlossen, so daß eine Auflockerung notwendig ist, um es in Lösung zu bringen.

³⁾ B. 75, 1001 [1942].