

UTZINO-LABORATORIUM.

Vorstand: Dr. Senji Utzino.
Professor der Kaiserlichen Universität Kyoto.

August 1915 (4. Jahr von Taishô) wurde von der Regierung speziell ein Laboratorium für Chemie in Kyoto (Yoshida Nihonmatsuchô) gegründet und der Wissenschaftlichen Fakultät der Kaiserlichen Universität Kyoto angegliedert. Die Hauptursache waren die neuen Anforderungen, die sich durch den Ausbruch des Weltkriegs ergeben hatten. Dieses Institut nun beschäftigte sich unter Leitung von Prof. Dr. M. Kuhara (Professor für Organische Chemie an der Wissenschaftlichen Fakultät der Kaiserlichen Universität Kyoto) zuerst hauptsächlich mit der wissenschaftlichen Erforschung sowie mit der technischen Darstellung der Arsenorganoverbindungen (z.B. Arsenobenzole), da die diesbezüglichen Heilmitteln durch den Weltkrieg nicht mehr eingeführt werden konnten.

Nach dem Tode von Prof. Dr. Kuhara, November 1919 (8. Jahr von Taishô), wurde Prof. Dr. Y. Osaka (Professor für Physikalische Chemie an der Wissenschaftlichen Fakultät Kyoto) mit der Leitung des Laboratoriums beauftragt, der aber schon im nächsten Jahre sein Amt niederlegte. Ihm folgte der a.o. Professor Dr. K. Matsumiya als Vorstand. Als das Laboratorium im Jahre 1926 (dem 4. Oktober des 15. Jahres von Taishô) von der Wissenschaftlichen Fakultät getrennt und nach dem an der Kaiserlichen Universität Kyoto von der Regierung neu gegründeten Institut für Chemische Forschung verlegt wurde, erhielt es nach seinem Leiter, dem a.o. Prof. Matsumiya den Namen „Matsumiya-Laboratorium“.

Im Jahre 1933 starb Prof. Matsumiya noch jung, nach viel versprechenden Anfängen und das Laboratorium kam unter die Direktion von Prof. Kita und Prof. Suzuki.

Im Jahre 1937, Ende Juni, wurde es dann als „Utzino-Laboratorium“ neu der Leitung von Prof. Dr. S. Utzino unterstellt. Hiermit wurde zugleich neben der chemotherapeutischen Forschung als neuer Wissenschaftszweig die Bearbeitung des biochemischen sowie pathologisch-chemischen Gebietes angeschlossen.

1. Untersuchungen über Eiweissstoffe und proteolytische Enzyme.

Die Versuche wurden unter Berücksichtigung der Spezifität der proteolytischen Enzymwirkung der Pankreasdrüse, der Dünndarmschleimhaut sowie der verschiedenen Gewebe angestellt. Die Acylpeptide werden durch den Mazerationssaft der Pankreasdrüse (Schwein) angegriffen, und zwar durch eine Trypsinfraktion, welche durch Enterkinase deutlich aktiviert werden kann aber keine Erepsinwirkung aufweist. Zur Zeit wurde eine Annahme von Carboxypolypeptidase von R. Waldschmidt-Leitz veröffentlicht, die Acylaminosäuren und Acylpeptide zu spalten vermag. Die Feststellung von T. Imai, dass Acyldipeptide durch Darmerepsin nicht, wohl aber Acyltripeptide durch dasselbe hydrolysiert werden können, ist weiter durch Versuche mit anderen synthetischen Acylpeptiden bestätigt worden. Dipeptide, welche eine nicht in der Natur aufgefundene α -Aminosäure als Komponente enthalten, wurden durch Erepsin sowie durch Gewebspeptidase angegriffen, sogar auch in asymmetrischem Sinne, während Dipeptide, welche eine β -Aminosäure im Molekül aufweisen, eine starke Resistenz gegen Peptidasewirkung zeigten. Unter den Glycylderivaten der Aminobenzolsäure wies dasjenige der Antranilsäure die stärkste Resistenz gegen Peptidase auf, während die Derivate der Meta- oder Parasäure durch das Enzym sehr leicht angegriffen wurden. Infolgedessen hat man angenommen, dass der Charakter der Peptidbindung (Iminobindung) auch eine grosse Rolle bei der Peptidasewirkung spielen mag. In bezug auf die Einstellung der Peptidasewirkung verschiedener Herkunft wurde ein ziemlich deutlicher Unterschied je nach dem Gewebe sowie der Tierart nicht nur in quantitativem sondern auch in qualitativem Sinne festgestellt. Um einen deutlichen Einblick in die Proteinasewirkung des Pankreassaftes zu gewinnen, wurden Versuche mit Kaninchenpankreassaft ausgeführt. Der Pankreassaft des Kaninchens enthält nur unaktives Trypsinogen, welches durch Enterokinase aktiviert werden kann. Weder Dipeptidase noch Tripeptidasewirkung des Saftes wurde bestätigt, während der Mazerationssaft der Pankreasdrüse sehr deutlich Eiweiss sowie Peptide hydrolysiert.

Was die Acylase in weiterem Sinne anbetrifft, wurde nur Chloracetylaminosäure durch den Pankreassaft angegriffen, während Acylaminosäuren wie Acyldipeptide der Saftwirkung widerstanden. Die Wirkung der Carboxypolypeptidase des Pankreassaftes des Kaninchens

scheint eine sehr beschränkte zu sein.

In bezug auf die Aktivierung des inaktiven Pankreassaftes haben wir festgestellt, dass verschiedene Salze wie auch Ca-Salz, Galle, Blut oder Gase ohne Einfluss auf den unaktiven Saft blieben, allein einige Gewebsmazerationssäfte wie die der Niere, Leber oder Milz wiesen einen aktivierenden Einfluss und zwar nur in der späteren Digestionszeit auf.

Die Selbstaktivierung bei der Aufbewahrung oder bei der Digestion war keine vollständige. Vom Standpunkt der pathologischen Biochemie sei hier erwähnt, dass der Drüsenmazerationssaft des Kaninchenpankreas, dessen Ausführungsgänge unterbunden worden sind, eine stark beeinträchtigte Trypsinwirkung, (sowie Peptonase- und Halogenacylase-wirkung) aufwies, auch wenn der Mazerationssaft noch mit Kinase behandelt wurde und dass eine Dipeptidase- und Tripeptidase-wirkung sich trotzdem noch in deutlichem Grade beobachten liessen.

Was das Spaltungsprodukt bei der Pankreassaftverdauung (aktiviert) anbetrifft, konnten wir ebenfalls eine interessante Beobachtung machen. Das Spaltungsprodukt, das wir als „Trypton“ bezeichnen möchten, verhält sich verschiedenen Fällungsreagenzien gegenüber sehr ähnlich wie Pepsin-Pepton, kann aber weder durch Pankreassaft (aktiviert) noch durch Magenschleimhautmazeration (pH 2.0) angegriffen werden, während Pepsin-Pepton durch den Pankreassaft (aktiviert) hydrolysierbar ist.

Trypton sowie Pepton wurden durch Gewebsenzyme sehr leicht gespalten. Als Eiweiss- wie Aminosäurederivate haben wir Pikrylderivate dargestellt. Alle Pikrylaminosäuren krystallisierten in schönen Nadeln. Mit einigen Pikryldipeptiden wurden enzymatische Spaltungsversuche angestellt.

- 1) S. Utzino, Journ. Biochem. Japan, 9, 453 (1928): Ueber die Wirkung der proteolytischen Fermente auf die Benzoyl- und Phtalylderivate.
 1. Ueber die Wirkung des Darmerepsins und der Hefeprotease auf Phtalylglycylglycin und Phtalyl diglycylglycin.
 2. Ueber die Wirkung der Gewebsproteasen auf Benzoyl- und Phtalylglycylglycin. (465)
 3. Ueber die Wirkung der Pankreasproteasen auf Benzoyl- und Phtalylglycylglycin. (483)
- 2) S. Utzino, Ztschr. Physiolog. Chem., 198, 135 (1931): Ueber die Wirkung der proteolytischen Fermente auf die Polypeptide.
- 3) F. Itzioka, Journ. Biochem. Japan, 24, 139 (1936): Ueber die pro-

teolytischen Fermente der Pankreasdrüse des Kaninchens.

1. Mitt. Ueber die proteolytischen Fermente des Mazerationssaftes von Pankreas und Dünndarmschleimhaut des Kaninchens.
2. Mitt. Ueber die proteolytischen Fermente des Pankreassaftes. (267)
3. Mitt. Ueber die Aktivierung des Pankreastrypsinogens. (ibid. 26)

2. Untersuchungen über Tumorchemie.

Unter Berücksichtigung der vergleichenden Biochemie haben wir die beiden Forschungswege der analytischen sowie der enzymatischen Richtung eingeschlagen und uns zuerst mit der systematischen Untersuchung von Sarkomgeweben bei Tieren beschäftigt.

In den extraktiven Stoffen des Kaninchensarkoms (3.275 g Kaninchensarkomgewebe) wurden folgende Substanzen isoliert: Xanthin, Hypoxanthin, Histidin, Kreatinin, Methylguanidin, Carnithin (?) und d-Milchsäure.

Hier sei erwähnt, dass Arginin nicht isoliert werden konnte, indem die Sakaguchi'sche Probe auch in der Extraktlösung negativ ausfiel. Fast gleiche Resultate wurden bei den Versuchen mit Hühnersarkom (600 g) erzielt.

Andererseits haben wir die Stickstoffverteilung (nach Kossel- Kutscher) im Hydrolysat der wasserunlöslichen entfetteten Grundsubstanz des Sarkomgewebes untersucht. Wir konnten aber keinen spezifischen Unterschied zwischen Sarkomgewebe und Normalgewebe (Leber, Milz, Lunge, Muskel, Niere, Herz) bezeugen. Nur sei hier darauf aufmerksam gemacht, dass der Prozentsatz des Stickstoffes der Arginin- sowie der Lysinfraktion einen etwas höheren Wert im Vergleich zu dem der anderen Gewebe zu zeigen scheint. Wir erinnern an die interessante Beobachtung von Gilroy, dass das Tumorwachstum (Mauskarzinom) nur durch Einverleibung des Arginins gefördert werden konnte, durch andere Aminosäuren aber nicht. Aus Hydrolysaten des Sarkomgewebes des Kaninchens wurden folgende Substanzen isoliert: Glycin, Alanin. Serin, Valin, Leucin, Leucinmid, Asparaginsäure, Glutaminsäure, l-Prolin, dl-Prolin, Phenylalanin, Tyrosin, Guanin, Adenin, Xanthin, Hypoxanthin, Histidin, Arginin und Lysin. Von den Monoaminosäuren wurden Glycin und Leucin in der grössten Menge isoliert. Was nun die Enzymwirkung des Sarkomgewebes anbetrifft, ist die Kathepsin-

wirkung desselben unbedeutend ; die Wirkung wird durch Cysteinzusatz erhöht, ist aber noch sehr viel schwächer als die der Leber der Versuchstiere. Die Dipeptidasewirkung des Sarkomgewebes zeigt fast den gleichen Grad wie die der Leber, ist also deutlich stärker als die des Muskelgewebes des Versuchstiers. Es verdient Interesse, dass Glycyl- β -Phenylalanin durch Sarkomgewebe gar nicht, wohl aber durch Lebergewebe angegriffen werden kann. Hier darf man vielleicht einen qualitativen Unterschied der Peptidasewirkung zwischen Tumor- und Lebergewebe annehmen. Vor allem konnten wir noch keine weitere oder spezifische Einstellung der Peptidase des Tumorgewebes konstatieren.

Die hydrolysierende Wirkung des Hühnersarkoms gegenüber Halogenacylaminosäuren spricht auch für eine Spezifität der Halogenacylase, was die Tierarten betrifft, da diese Derivate weder durch Sarkomgewebe noch durch Muskelgewebe des Kaninchens angegriffen werden konnten, wohl aber durch Leber, Niere und Milz des Kaninchens und durch alle hier untersuchten Hühnergewebe.

Bei den Versuchen in bezug auf die Arginasewirkung des Sarkoms scheint diejenige des Hühnersarkoms noch sehr viel schwächer als die des Kaninchensarkoms, die auch im allgemeinen nicht die stärkste unter den untersuchten Normalgeweben (Kaninchenniere) ist. Die aktivierende Wirkung von Mangansulfat auf Sarkomarginase liess sich von uns bestätigen, sie scheint aber ebenfalls nicht so ausgeprägt zu sein.

Auf Grund der hier erzielten analytischen sowie enzymatischen Beobachtungen mag man eine spezifische Enzymwirkung des Sarkomgewebes behaupten, wenn man auch noch keinen besonders gesteigerten Umsatz im Tumorgewebe zu konstatieren vermochte.

Bei den analytischen Untersuchungen stösst man wegen des mangelhaften Materials stets auf die grössten Schwierigkeiten, was uns immer nach davon abhält, irgendwelche letzte Schlussfolgerungen zu ziehen.

Biochemische Untersuchungen über Geschwülste.

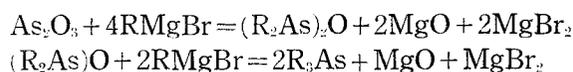
- 1) A-1, S. Utzino, M. Yoshioka und K. Shimazu, Kagaku Kenkyusho-Kôenshû, (Berichte des Instituts für Chemische Forschung) 5, 159 (1935): Ueber die proteolytischen Wirkungen des Hühnersarkoms.
- 2) A-2, S. Utzino und M. Yoshioka, ebenda, 7, 134 (1936): Ueber die Kathepsinwirkung des Kaninchensarkoms.

- 3) A 3, S. Utzino und M. Yoshioka, ebenda, 7, 139 (1936): Ueber die Peptidasewirkung des Kaninchensarkoms.
- 4) A-4, F. Itzioka, ebenda, 7, 224 (1936): Ueber die Halogenacylase-wirkung des Hühner- und Kaninchensarkoms.
- 5) B-1, S. Utzino und T. Iida, ebenda, 6, 78 (1935): Ueber die Stickstoffverteilung des Hühnersarkoms.
- 6) B-3, S. Utzino und K. Shimazu, ebenda, 7, 131 (1936): Ueber die Stickstoffverteilung des Kaninchensarkoms.
- 7) S. Utzino, Berichte der Japanischen Biochemischen Gesellschaft, 11, 157 (1936): Ueber die biochemischen Untersuchungen über Geschwülste.

3. Untersuchungen über Metallorganoverbindungen.

Erste kurze Zusammenfassung der Ergebnisse in Matsumiya-Laboratorium (bis 1932):

Aus dem Grignard-Reagens (Phenylmagnesiumbromid, α -Naphthylmagnesiumbromid) und Arsinchlorid entstehen in der Hauptsache tertiäre Arsinverbindungen (Triphenyl- oder Tri- α -Naphthylarsin). Bei der Reaktion mit überschüssigem Arsinchlorid gewinnt man sekundäre Arsinverbindungen (Diphenylarsinchlorid, Dinaphthylarsinchlorid), aus welchen Diphenyl- oder Dinaphthylarsinsäure gebildet wurde. Aus Grignardreagens und Arsentrioxyd (As_2O_3) gewinnt man Triphenylarsin (R_3As) und Diphenylarsenoxyd ($(\text{R}_2\text{As})_2\text{O}$), wobei die Reaktion sich wie folgt vollziehen soll:



Arsentrisulfid, gefällt durch SH_2 bei saurer Reaktion und bei 100°C getrocknet, gab mit Grignardreagens Tri-p-toluylarsinsulfid, Di-p-toluylarsinsulfid und nur wenig Tri-p-toluylarsin, während nur Tri-p-toluylarsin und Di-p-toluylarsinsulfid isoliert wurden, aber nicht Tri-p-toluylarsinsulfid, wenn Arsentrisulfid mit CO_2 und S_2C behandelt wurde.

Arsenrichlorid gab mit Naphthylquecksilberchlorid bei 160° α -Naphthylchlorarsin und mit Di-naphthylquecksilber, aber bei 145° unter Druck Dinaphthylchlorarsin sowie Trinaphthylarsin.

Bei der elektrolytischen Reduktion von 3-Nitro-4-oxyhydrophenylarsinsäure mittels einer Kathode von Quecksilber, Blei oder Bleiamalgam erhielt man die Arsinverbindung bei 4.7 Normalsalzsäure und die Arseno-verbindung bei einer noch höheren Konzentration der Salzsäure. In

dem Medium von SO_2H_2 gewinnt man nur die Arsinverbindung. Beim Gebrauch von anderen Kathoden (Pt, Ni, Cu) geschah die Reduktion nur in der Nitrogruppe. Bei der elektrolytischen Reduktion von 4-Aminophenylarsinsäure oder 4-Hydroxyphenylarsinsäure in verdünnter Salzsäure wurde je nach der Salzsäurekonzentration die Arsin- und Arseno-Verbindung gewonnen. Die Grenzkonzentration liegt bei 8 respective bei 4 Normal.

Unter Mitwirkung des pharmakologischen und bakteriologischen Instituts haben wir von neuem die biochemischen Untersuchungen betreffs der Toxität und der spirochäciden Kraft der Organoarsenverbindungen in Angriff genommen. In bezug auf Acylaminoarsinsäuren, welche als stabile sowie minder giftige Mittel angewandt werden, hat man festgestellt, dass Acylderivate gegenüber einer Acylasewirkung verschiedener Herkunft sehr widerstandsfähig sind, was auch für eine verminderte Toxität sprechen dürfte.

1. Kaoru Matsumiya, Memoirs of the College of Science Kyoto Imp. Univ. 8, 11 (1925): On organic compounds of antimony. Part 1. Reaction between α -naphthylmagnesium bromide and inorganic antimony compounds.
Tri- α -naphthylstibine and some of its derivatives.
2. Kaoru Matsumiya, ebenda, 4, 217 (1919-1921): On organic compounds of arsenic. 1.
Reaction between the grignard reagent and arsenious chloride.
3. Kaoru Matsumiya and Minoru Nakai, ebenda, 8, 307 (1925): On organic compounds of arsenic. 2.
Reaction between the grignard reagent and arsenic trioxide.
4. Kaoru Matsumiya, ebenda, 8, 391 (1925): On organic compounds of arsenic. 3.
Reaction between arsenic trichloride and α -naphthyl compounds of mercury.
5. Kaoru Matsumiya and Minoru Nakai, ebenda, 10, 57 (1926-27): On organic compounds of arsenic. 4.
Reaction between the grignard reagent and arsenic Trisulphide.
6. Kaoru Matsumiya and Hisakazu Nakata, ebenda, 10, 199 (1926-27): On organic compounds of arsenic. 5.
The electrolytic reduction of 3-nitro-4-hydroxyphenylarsinic acid.
7. Kaoru Matsumiya and Hisakazu Nakata, ebenda. 12, 63 (1929): On organic compounds of arsenic. 6.

The electrolytic reduction of some aryl-arsinic acids.

8. Fuyutaroo Itzioka, *Berichte des Instituts für Chemische Forschung*, 7, 226 (1937).

Über das Verhalten der Acyl-3-amino-4-oxyphenylarsinsäure gegenüber Enzymwirkungen.