Werk

Titel: Über neuere Proteinchemie

Autor: Bergmann, Max

Ort: Berlin

Jahr: 1924

PURL: https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?34557155X_0012|log765

Kontakt/Contact

Digizeitschriften e.V.
SUB Göttingen
Platz der Göttinger Sieben 1
37073 Göttingen

info@digizeitschriften.de

Die Chorda des Haies, entwicklungsgeschichtlich die erste Anlage des Knorpel-Knochengerüsts, ist *deutlich krystallin* und enthält zweifellos *dieselbe Substanz*, die in geringer Krystallitgröße im *Knorpel* des Säugers enthalten ist.

Nicht minder bemerkenswert ist das Ergebnis in der Keratingruppe. Haar, Borste und Stachel, Feder, Fischbein und Horn (Gemse) liefern das gleiche, bereits früher für das Haar beschriebene Diagramm. Die aus der Fischschuppe isolierten faserigen Strukturelemente zeigen es aber noch weitgehend *differenziert*, hier sind die *Krystalliten gröber*, vermutlich ist auch die Störung der Interferenzen durch fremde Stoffe geringer.

Aus anderen Beobachtungen sind allgemeinere Folgerungen vorerst nicht zu ziehen. Das gilt von dem Material, das das Reptilien-*Ei* einhüllt, ferner vom *Schwert des Schwertfisches* (Xiphias gladius), das deutlich ein Gemisch von Stoffen enthält (solche mit und solche ohne Faserstruktur), und endlich vom *Kiefer* von *Eunice* (Ringelwurm), der deutliche Krystallstruktur besitzt. Dieses Material ist aber *nicht identisch mit Chitin*, wie bisher angenommen wurde.

Es ergibt sich die wichtige chemische Folgerung, nach den krystallisierten Hauptbestandteilen von Knorpelgewebe und Keratinen (samt Ichthylepidin) *in entwicklungsgeschichtlich tiefer stehendem Material zu suchen.*

Zum Schluß haben wir dem Berliner Zoologischen Museum, das uns das Material zur Verfügung gestellt hat, sowie Herrn Dr. KUNIKE den besten Dank auszusprechen.

Über neuere Proteinchemie*).

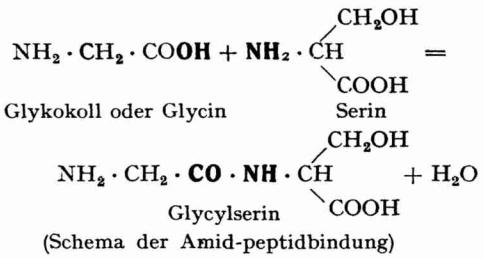
Von MAX BERGMANN, Dresden.

Das Hauptsubstrat aller gerberischen Tätigkeit, die tierische Haut, besteht im wesentlichen aus Eiweißstoffen oder Proteinen. Unser Bemühen um wissenschaftliche Durchdringung aller ledertechnischen Prozeduren verdichtet sich darum in dem Bedürfnis nach Vertiefung unserer eiweißchemischen Kenntnisse. Wir sind dabei in der glücklichen Lage, der chemischen und physiologischen Literatur eine außerordentlich große Anzahl wertvoller Einzelbeobachtungen über das Verhalten der Proteine entnehmen zu können. Dennoch sind wir noch weit von der Möglichkeit entfernt, diese Beobachtungen zu einem irgendwie geordneten und übersichtlichen chemischen System der Proteine zu vereinigen. Größer als in jeder anderen Stoffklasse sind hier die experimentellen Schwierigkeiten, die mit den physikalischen Eigenschaften und der mangelnden Einheitlichkeit der untersuchten Eiweißstoffe zusammenhängen.

Was wir an klaren chemischen Tatsachen über die Struktur der einfacheren Proteine wissen, findet seinen vorläufigen Höhepunkt in den monumentalen Arbeiten von EMIL FISCHER. Ihnen liegt, soweit sie sich mit der Strukturfrage beschäftigen, der Gedanke zugrunde, daß die einzelnen Bausteine des Proteinmoleküls, die Aminosäuren, amidartig miteinander verknüpft sind. Die *Peptidbindung*, wie FISCHER das verknüpfende Prinzip nennt, soll so zustande kommen, daß immer das Carboxyl der *einen* Aminosäure mit der Aminogruppe einer *zweiten* Aminosäure unter Austritt eines Moleküls Wasser reagiert.

In etwa 40 inhaltsreichen Arbeiten hat FISCHERS unerhörte experimentelle Kunst eine große Zahl derartiger *Amidpeptide* aufgebaut, beginnend mit solchen Dipeptiden, welche nur zwei Aminosäuren durch *eine* Amidbindung verknüpft enthalten bis hinauf zu langen Polypeptidketten aus 18 einzelnen Aminosäuren. Ihre Krönung fanden

*) Vortrag, gehalten auf der Hauptversammlung des Internationalen Vereins der Lederindustrie-Chemiker in Dresden am 18. September 1924.

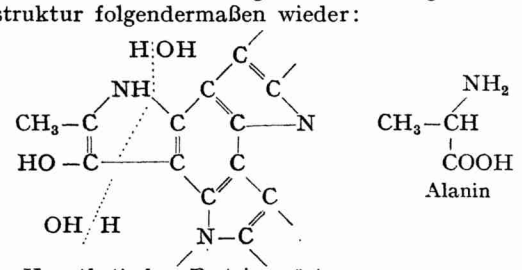


(Schema der Amid-peptidbindung)

FISCHERS Synthesen durch den Nachweis, daß seine künstlichen Gebilde von Verdauungsfermenten wieder zu den Aminosäuren hydrolysiert werden. Bei der großen Spezifität der natürlichen Fermente kann man diese Tatsache als gewichtiges Argument dafür ins Feld führen, daß dieselben Bindungsprinzipien wie in den künstlichen Peptiden auch in den natürlichen Proteinen vorkommen. Ein zweiter und wie mir scheint noch schwerer wiegender Beweis ist, daß FISCHER beim fermentativen Abbau natürlicher Proteine, wenn er ihn vorzeitig unterbrach, Polypeptide von der Art der synthetischen Peptide auffand.

Wenn FISCHER auch gelegentlich schon von der Möglichkeit anderer Bindungen zwischen Aminosäuren sprach[1]) so war er doch zweifellos der Ansicht, daß die Amidbindung das wesentliche Moment für die Verkettung der Aminosäuren darstellt. Er hat darum in einer besonderen Abhandlung[2]) dargelegt, daß die Amidbindungen einer verhältnismäßig kleinen Anzahl von Aminosäuren durch die Variation der Reihenfolge und die Mehrzahl der Carboxyle oder Aminogruppen bei einzelnen Aminosäuren völlig ausreichen, um eine schier ungemessene Anzahl von Peptiden aufzubauen und so der Forderung der Biologen zu genügen, daß jede Tierspezies oder gar jedes Individuum seine besonderen Proteine besitzt. Aus 20 Aminosäuren lassen sich z. B. $2{,}4 \times 10^{18}$ isomere Polypeptide aufbauen, auch wenn man nur die α-Aminogruppen und die benachbarten Carboxyle zur Herstellung der Peptidbindungen benutzt.

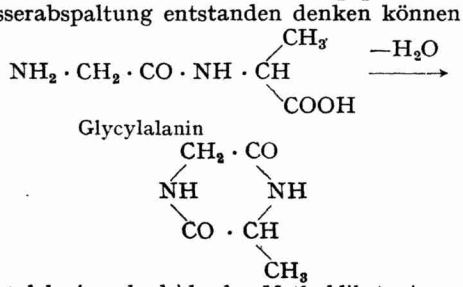
Aber die Peptidbindung im Sinne FISCHERS dürfte nicht ausreichen, um alle physikalischen und chemischen Eigenschaften der Proteine zu erklären. Der Strukturchemiker wäre in Verlegenheit, wenn er z. B. die Denaturierung mancher Eiweißstoffe oder die Gelatinierung der Hautproteine allein aus den Eigenschaften der Säureamidbindung erklären sollte. TROENSEGAARD[3]) hat einen interessanten Versuch unternommen, der Proteinchemie neue strukturelle Möglichkeiten zu erschließen. Nach seiner Hypothese bestehen die Eiweißkörper aus komplizierten und unbeständigen Ringsystemen, unter denen Pyrrol-, Pyridin- und Imidazolringe vorherrschen sollen. Z. B. sollen drei Oxypyrrolringe so zusammentreten, daß sich zwischen ihnen von selbst noch ein Benzolring ausbildet. TROENSEGAARD gibt eine derartige Proteinstruktur folgendermaßen wieder:



Hypothetisches Proteingerüst nach TROENSEGAARD

Die punktierte Linie veranschaulicht, wie durch hydrolytischen Eintritt zweier Wassermoleküle Alanin abgespalten wird (oder eine andere aliphatische Aminosäure, wenn man in der Formel CH_3 durch H oder ein passendes Alkyl ersetzt). Dagegen läßt sich die quantitative Aufspaltung der Proteine in Aminosäuren und vor allem die Bildung aromatischer Aminosäuren durch einfache Hydrolyse nicht ohne weiteres erklären. Und der Versuch, aus Proteinen größere Pyrrolmengen zu gewinnen, ist bisher nicht so geglückt, daß man sicher wäre, daß es sich wirklich um Pyrrole und nur um Pyrrole handelt, und daß die erhaltenen cyclischen Gebilde wirklich im Protein vorgebildet waren.

Eine ähnliche Unsicherheit herrscht gegenwärtig noch bezüglich einiger anderer Ringsysteme, deren Vorkommen in den Proteinen in neuerer Zeit angenommen worden ist. Es liegt nur allzunahe, in den Eiweißstoffen nach Diketopiperazinen zu suchen, also nach jenen Ringgebilden, die wir uns aus den Dipeptiden durch Wasserabspaltung entstanden denken können:



Glycylalanin

Glycylalanin-anhydrid oder Methyldiketopiperazin

Verschiedenen Forschern ist es wiederholt geglückt, bei der Hydrolyse natürlicher Proteine kleine Mengen davon aufzufinden. Nachdem aber *Brigl*[4]) vor einem Jahr gezeigt hat, wie außerordentlich leicht diese Anhydride aus den Dipeptiden entstehen, ist auch hier eine gewisse Skepsis gegenüber den analytischen Befunden bei Proteinhydrolysen am Platze. Auch die von ABDERHALDEN und KOMM[5]) im Anschluß an T. SASAKI[6]) für den Nachweis von Diketopiperazinen verwendete Reaktion mit Pikrinsäure und Sodalösung ist keineswegs für Diketopiperazine spezifisch; denn nach unveröffentlichten Versuchen von F. WEINMANN und mir zeigen verschiedene Derivate der γ-Amino-β-oxybuttersäure[7]), die keinen Piperazinring enthalten, dieselbe Reaktion. In besonders ausgezeichneter Weise tritt die Farbreaktion ferner bei dem weiter unten besprochenen „Anhydroglycylserinanhydrid" ein, das bestimmt kein gewöhnliches Diketopiperazin mit zwei Carbonylgruppen ist.

Ein großer methodischer Fortschritt liegt in dem Versuch von R. O. HERZOG und R. BRILL[8]), die Struktur eines Proteins, des Fibroins der Seide, auf röntgenspektroskopischem Weg, also ohne Eingriff in das chemische Gefüge, zu ermitteln. Ich werde weiter unten auf die Ansichten dieser Forscher zurückkommen, welche auch die Möglichkeit diskutieren, daß im krystallisierten Teil des Seidenfibroins das Glycyl-d-alaninanhydrid bzw. ein Polymerisationsprodukt desselben vorliegt.

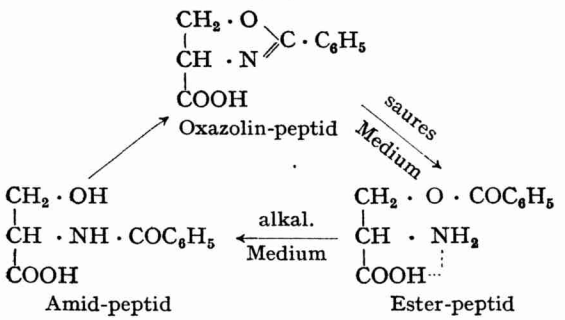
Die Schwierigkeit für die *chemische* Ermittlung feinerer Bindungen innerhalb des Proteinmoleküls liegt darin, daß der chemische Eingriff mit Vorliebe zuerst gerade die empfindlichen Strukturelemente zerstört, nach welchen wir suchen. Wie sollen wir hoffen, nach stundenlangem Kochen mit Säure unter Druck, auch wenn sie noch so stark verdünnt ist, oder nach ähnlichen robusten Operationen noch Bindungen aufzufinden, die zum Beispiel beim Denaturieren oder Gelatinieren, also beim bloßen Erhitzen mit Wasser, gelöst werden. Vorerst ist dazu unsere Methodik noch zu roh und zu wenig auf die spezielle Natur der verschiedenen Bindungselemente eingestellt.

Ich habe darum versucht, die Aufgabe von einer anderen Seite in Angriff zu nehmen durch das Studium der einfacheren Proteinbausteine. Wir wissen noch recht wenig über die Beziehungen, welche die aktiven Gruppen der einfachen Aminosäuren und einfachen Peptide aufeinander ausüben können. Begreiflicherweise hat man bisher wegen der fundamentalen Wichtigkeit der Amino- und Carboxylgruppen im wesentlichen nur deren Wirkung aufeinander, also die Amidbindung, experimentell realisiert und durch Synthese einer möglichst großen Anzahl von Amidpeptiden der verschiedensten Aminosäuren ihre Eigenschaften studiert. Man muß aber bedenken, daß die Zahl der einfachen Aminosäuren (Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Norleucin, Phenylalanin) geringer ist als jene der Aminodicarbonsäuren

(Asparaginsäure, Glutaminsäure), der Diaminosäuren (Arginin und Ornithin, Lysin, ferner Prolin, Histidin, Tryptophan) und der Oxyaminosäuren und schwefelhaltigen Aminosäuren (Serin, Oxyglutaminsäure, Oxyprolin, Oxytryptophan, Tyrosin, ferner Cystein und Cystin). Die Mehrzahl der Aminosäuren hat gegenüber dem einfachen Glykokolltypus einen Überschuß an Hydroxyl, Carboxyl oder Aminogruppen, und man hat sich zu fragen: Welche neuen Bindungsmöglichkeiten schafft das Vorhandensein dieser überzähligen Hydroxyle, Aminogruppen oder Carboxyle? Und ferner: Wie wirken diese Gruppen auf vorhandene Amidbindungen ein? Beim Studium biologischer Vorgänge finden wir immer wieder, daß die Natur im allgemeinen alle strukturellen Möglichkeiten ausnützt, welche ihr die Stoffe bieten, mit denen sie arbeitet. Wir dürfen also erwarten, in den Proteinen neben Amidbindungen auch Esterbindungen zu finden. Und wir dürfen ferner erwarten, daß Hydroxyl und Aminogruppen in einem lebhaften Wettbewerb miteinander um den Besitz der Carboxyle stehen. Ähnliches gilt, wo mehrere Aminogruppen oder Carboxyle vorhanden sind. Damit hört für uns das Peptid und das Protein auf, ein stabiles, festliegendes Gebilde zu sein. Wenigstens jene Eiweißstoffe, die im Zentrum lebhafter Stoffwechselvorgänge stehen, werden uns nun als Substrate verschiedener, in lebhafter Konkurrenz befindlicher Zustandsformen erscheinen, die sich je nach den physikalisch-chemischen Bedingungen im einen oder anderen Sinne umlagern können.

Ich war der Meinung, daß sich diese Verhältnisse am leichtesten bei den Oxyaminosäuren überprüfen lassen würden, und wählte nach verschiedenen Vorarbeiten in einer gemeinsam mit A. MIEKELEY angestellten Versuchsreihe die einfachste Oxyaminosäure, das Serin. Es sollte in Form seines Dipeptids mit Glykokoll zur Untersuchung kommen. In dem Glycylserin (Formel s. oben) ist die Peptidbindung, deren Umwandlungsmöglichkeiten uns interessierten, aus dem Carboxyl des Glykokolls und der Aminogruppe des Serins aufgebaut. Studiert sollte zunächst werden, wie das Hydroxyl und das Carboxyl des Serins die Peptidbindung beeinflussen oder an ihr teilnehmen. Überflüssig und die Klarheit des Bildes störend war dabei vorerst die Aminogruppe des Glykokolls. Für die ersten Versuche mußte diese Störung beseitigt werden und auf ein noch einfacheres Modell zurückgegriffen werden: das Benzoylserin, das im übrigen noch die Amidbindung, das Hydroxyl und Carboxyl im Serinrest aufweist.

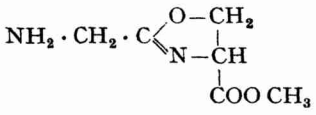
Das N-Benzoylserin trägt den Benzoylrest, also die vereinfachte Peptidbindung, am Stickstoff. Wir haben es umwandeln können in ein zweites Benzoylserin (s. nebenstehende Formeln), das keine Säureamidgruppe mehr enthält, dafür aber eine Estergruppe. Es trägt sein Benzoyl am Sauerstoff. Man könnte bei ihm von einer *O-Peptidbindung* oder *Esterpeptidbindung* sprechen. In der Mitte zwischen beiden Peptidmodellen steht ein dritter Stoff, bei welchem der maskierte Benzoylrest gleichzeitig mit dem Sauerstoff und dem Stickstoff in Verbindung steht. Durch Wasserabspaltung ist hier ein Ringsystem entstanden, das wir Chemiker mit dem Namen *Oxazolinring* bezeichnen. Wir haben also hier drei verschiedene Formen der Peptidbindung: die Amidpeptidbindung, die Esterpeptidbindung und die Oxazolinpeptidbindung. Wichtiger als die Auffindung von zwei neuen Peptidformen scheint mir die Tatsache, daß alle diese Stoffe in einem engen genetischen Zusammenhang stehen und mit großer Leichtigkeit ineinander übergehen. Denn die beiden neuen Peptidformen sind bei gewissen Wasserstoffionenkonzentrationen außerordentlich instabil. Das Oxazolin ist in alkalischer oder neutraler Lösung, z. B. als Alkalisalz, recht beständig. Sobald man es aber aus seinen Salzen in Freiheit setzt, beginnt das Carboxyl des freien Oxazolinpeptids zu wirken. Die Basizität der Oxazolingruppe ist viel zu gering, um die Säuregruppe zu neutralisieren (Oxazoline bilden mit den gewöhnlichen Carbonsäuren keine Salze) und die verhältnismäßig geringe Konzentration der Wasserstoffionen genügt, um in kurzer Zeit völlige Umlagerung in das Esterpeptid zu bewirken. Dieses Esterpeptid bleibt umgekehrt in saurer Lösung unverändert. Hier ist nämlich die verhältnismäßig stark basische Aminogruppe durch Salzbildung mit dem freien Carboxyl neutralisiert und unwirksam gemacht. Sobald das Carboxyl durch Salzbildung abgestumpft wird, entfaltet die frei gemachte Aminogruppe ihre basischen Eigenschaften, reißt das Benzoyl vom Sauerstoff weg an sich und erzeugt so in wenigen Minuten wieder das altbekannte Amidpeptid.



Damit ist eine Reihe von Umwandlungen bei proteinverwandten Stoffen bekannt geworden, die ganz an die Instabilität der echten Proteine erinnern. Nur ein Schritt erfolgt bei unseren Versuchen noch unter umständlicher und verhältnismäßig kräftiger chemischer Einwirkung: Die Überführung des Amidpeptids ins Oxazolin unter Wasserabspaltung: Wir müssen dafür unter vorübergehender Maskierung des Carboxyls kurze Zeit mit kaltem Thionylchlorid in Berührung lassen. Wir hoffen aber auch in diesem, für die Berechtigung unserer Anschauungen nicht entscheidenden Punkt noch eine bessere Annäherung an biologische Verhältnisse zu erreichen.

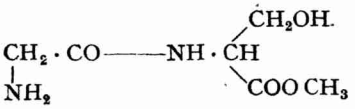
Wenn hier an unseren künstlich vereinfachten Peptidmodellen die Verhältnisse schon verhältnismäßig verwickelt sind, werden wir uns nicht wundern, daß sie um so komplizierter werden, je mehr wir uns echten Peptiden und Proteinen nähern. Nur durch diese schrittweise Annäherung werden wir aber auch alle die verschiedenen gegeneinander wirkenden strukturellen Kräfte kennenlernen, die uns am hochmolekularen Protein den Blick völlig trüben oder versperren.

Erwartungsgemäß folgt schon das Dipeptid Glycylserin nicht mehr dem oben geschilderten Schema des Benzoylserins. Als wir nämlich das Glycylserin in Form seines Methylesters unseren Umwandlungsverfahren (Auflösen in kaltem Thionylchlorid) unterwarfen, entstand zunächst ein chlorhaltiges Zwischenprodukt, das mit verdünntem Ammoniak aber nicht den einfachen Oxazolinpeptid-ester

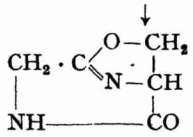


lieferte, sondern sofort unter Abspaltung von Methylalkohol einen neutralen Stoff $C_5H_6O_2N_2$, den wir vorerst Anhydroglycylserinanhydrid nennen möchten.

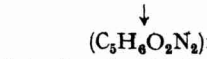
Man könnte versucht sein, den Vorgang durch die beiden ersten nachstehenden Formeln wiederzugeben, also anzunehmen, daß neben der Oxazolinbildung auch noch intramolekulare Amidierung eingetreten ist. Der so entstandene zweite Ring würde sich von einem tautomerisierten Diketopiperazinring ableiten.



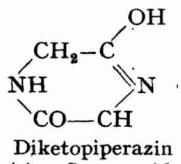
Glycyl-serin-methylester



Anhydro-glycylserin-anhydrid I



Anhydro-glycylserin-anhydrid II



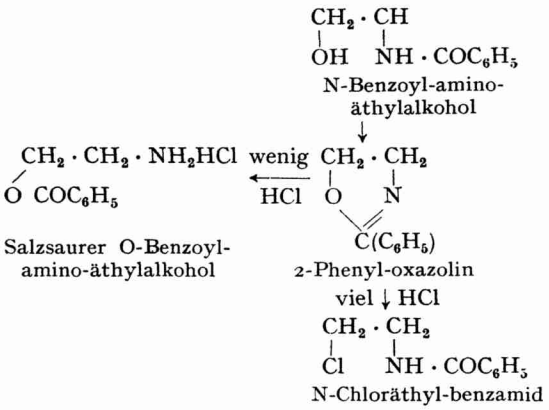
Diketopiperazin (eine Säureamidgruppe ist tautomerisiert)

Ich muß aber doch darauf hinweisen, daß die Reaktionen des neuen Anhydroglycylserinanhydrids so merkwürdige sind, daß seine Struktur noch genauer Prüfung bedarf. Ohne hierauf näher einzugehen, erwähne ich vorerst nur, daß das Anhydrid schon bei kurzer Berührung mit schwacher Alkalilauge und nachträglichem Ansäuern in ein Isomeres umgewandelt wird. Es ist sicher, daß wir mit diesen beiden Anhydroverbindungen zwei ganz neue Typen von Peptidanhydriden aufgefunden haben.

Ich halte es für sehr wahrscheinlich, daß solche Oxazoline oder analoge instabile Ringsysteme am Aufbau der natürlichen Proteine beteiligt sind*). Auch das Vorkommen von Esterpeptiden ist keineswegs ausgeschlossen. Aber der direkte Nachweis ist noch nicht einwandfrei geglückt. Wie schon erwähnt, ist die übliche Methodik der Hydrolyse und Aufarbeitung, bei welcher Säuren und Alkalien zur Verwendung gelangen, für ihre Auffindung sehr wenig geeignet, weil sie dabei in einfache Amidpeptide übergehen müßten. Wir suchen darum eine neue Methodik zu finden. Einen Fingerzeig, wenn auch keinen strikten Beweis, wird die fermentative Untersuchung unserer künstlichen Oxazoline und oxazolinähnlichen Anhydride bringen.

Nachdem in meinen Ausführungen das Auftreten von instabilen Ringsystemen häufig erwähnt worden ist, darf ich vielleicht noch bemerken, daß mir die Bedeutung solcher Ringsysteme in Proteinen nicht nur darin zu liegen scheint, daß sie wegen ihrer eigenen Instabilität ein Bild von der leichten Zersetzlichkeit der Proteine geben. Häufig sind Ringe auch die willkommene Erklärung für viele auffallend leicht erfolgende Umlagerungen. Der Übergang von N-Peptid in O-Peptid und umgekehrt wird uns verständlich, wenn wir sehen, wie zunächst der *eine* Säurerest, der anfangs am Stickstoff sitzt, Valenzen nach dem Sauerstoff spielen läßt, um dann unter geeigneten Bedingungen seine Valenzverhältnisse so zu verschieben, daß die Sauerstoffbindung gestärkt und die Stickstoffbindung geschwächt und dann ganz gelöst wird. In der Möglichkeit zum spielenden Ausgleich der einzelnen Valenz*teilbeträge*, die wir uns auf keinen Fall ihrer Größe nach als festliegend vorstellen dürfen, liegt eine vorzügliche Funktion der Ringsysteme, die ihnen die Aufgabe zuweist, Gruppen in Reaktionen hineinzureißen, die sonst derselben Reaktion nicht zugänglich wären. Sie ermöglicht andererseits, je nach den Reaktionsbedingungen, in sehr fein abgestimmter Weise auf ganz verschiedene Art zu reagieren. Dasselbe Oxazolin, das z. B. mit geringen Salzsäurebeträgen seinen organischen Säurerest nach dem Sauerstoff hin unter gleichzeitiger Salzbildung verschiebt, wirft ihn, wenn mehr Salzsäure zugegen ist, nach dem Stickstoff hin unter gleichzeitiger Chlorierung[10]):

*) P. KARRER und GRÄNACHER[9]), deren neueste Untersuchung über Aminosäurederivate sich in ähnlichen Bahnen bewegt wie obige Ausführungen, haben gezeigt, daß auch die Acylderivate der einfachen Aminosäureamide in Oxazolderivate übergeführt werden können. Dieser Oxazolinring führt, wenn sich an ihm die ursprüngliche Säureamidgruppe beteiligt, zu einer auffallend leichten Aufspaltung derselben in mineralsaurer Lösung. Genau dieselbe leichte Spaltbarkeit hatten früher BERGMANN, BRAND und WEINMANN[7]) an einem Ringderivat des Benzoylaminooxybuttersäureamids beobachtet.



Wenn ich im ersten Teil meiner Ausführungen versucht habe, neues Material über den Chemismus der Proteine an Hand *experimenteller* Untersuchungen ihrer einfachen *Bausteine* beizubringen, so habe ich jetzt einiger *theoretischer* Begriffe und Anschauungen über das *allgemeine Bauprinzip* der Proteine und ähnlicher hochmolekularer Komplexe zu gedenken. Haben wir uns im ersten Teil in den gewohnten Bahnen der guten alten Strukturchemie bewegt, so behandeln wir jetzt Anschauungen, welche den Gedankengängen des Kolloidchemikers mit seinen vergrößerten oder gehäuften Molekülen näherliegen. Wir wollen uns aber dabei klar bleiben, daß auch die Erscheinungen der Kolloidchemie sich auf strukturchemische Vorgänge zurückführen lassen müssen. Ein Beispiel dafür habe ich erst kürzlich durch den Nachweis erbracht, daß eine so ausgesprochene Adsorptionserscheinung wie die Jodstärkebildung in dieselbe Verbindungsklasse gehört wie die Jodjodkaliumverbindungen der einfachsten synthetischen Glucoside, bei welchen die Jodreaktion auf die eigenartige Sauerstoffbrücke lokalisiert werden konnte[11])

Im letzten Jahr ist eine Hypothese entwickelt worden, welche die Chemie der Proteine von einer ganz neuen Seite betrachten möchte. Man hat, wie schon zuvor erwähnt, festgestellt, daß das Fibroin der Seide ein gut entwickeltes Röntgenstrahlspektrum gibt. Da solche Spektren durch die Interferenz des Röntgenstrahls an einem regelmäßigen Gitter entstehen, müssen die Elemente des Fibroinmoleküls gitterförmig, d. h. regelmäßig im Raum angeordnet sein, und die Regelmäßigkeit ist nach den Abmessungen des Röntgenspektrums eine solche, daß sie durch Aneinanderreihung eines ganz einfachen Komplexes aus ganz wenigen Aminosäuren verursacht zu sein scheint. Man hat darum die Idee erwogen, ob nicht der krystallisierte Teil des natürlichen Seidenfibroins seiner Konstitution nach durch regelmäßige Wiederholung, durch *Polymerisation* eines ganz einfachen Grundkörpers, etwa eines Diketopiperazins, zustande kommt. An die Stelle der sehr langen Peptidketten aus vielen und verschiedenen Aminosäuren, wie sie FISCHER annahm, tritt hier die Anschauung, daß ein einfacher, vielleicht cyclischer Grundkörper durch Polymerisation das komplexe Proteinmolekül ergeben kann. Der regelmäßig wiederkehrende Grundkörper des Polymerisates soll die für das Röntgenstrahlspektrum notwendige Gitterregelmäßigkeit verursachen. HERZOG und BRILL haben diese Hypothese mit aller Vorsicht zur Diskussion gestellt[8]).

HERZOG[12]) hat ferner schon 1916 die Vermutung ausgesprochen, daß man es in den Proteinen mit komplexen Verbindungen zu tun haben könnte. Ähnliche Gedanken haben dann 1920 K. HESS[13]) und EDM. STIASNY[14]) fast gleichzeitig geäußert, die von Nebenvalenzen und Restaffinitäten sprechen. Und in jüngster Zeit hat sich auch ABDERHALDEN[5]) dieselbe Anschauung zu eigen gemacht, wenn er das Eiweiß für eine Zusammenfassung von untereinander durch Nebenvalenzen assoziierten Komplexen ansieht. Allen diesen Hypothesen gemeinsam ist der Gedanke, daß in den Proteinen kleinere Bausteine (mögen es nun Polypeptide, Peptone, Diketopiperazine oder diketopiperazinhaltige Komplexe sein) durch eine feinere Art von Valenzbetätigung (Polymerisation, Assoziation, Nebenvalenzen, Restaffinitäten) zusammengehalten werden.

Die neuen Anschauungen werden zweifellos in den nächsten Jahren Gegenstand vielfacher Erörterung sein. Es verlohnt sich darum, hier einmal genauer zu untersuchen, was sie uns inhaltlich eigentlich sagen, um so mehr, als die Begriffe „Polymerisat" und „Assoziat" über die Eiweißchemie hinaus ganz allgemein für die Chemie hochmolekularer Stoffe von Bedeutung sind.

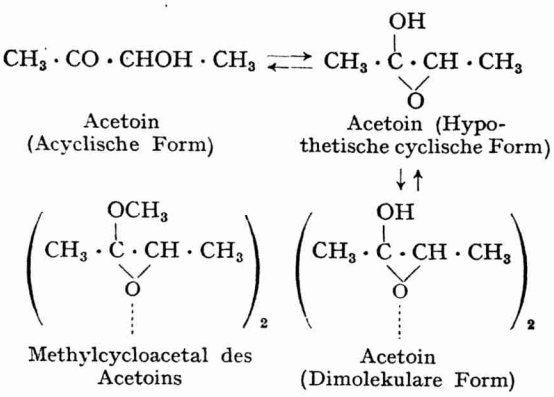
Mit Polymerie bezeichnet man gewöhnlich die Tatsache, daß zwei Stoffe bei gleicher Zusammensetzung verschiedenes Molekulargewicht und damit verschiedenes Verhalten zeigen. Nach einer solchen allgemeinen Definition des Polymeriebegriffs stehen auch solche Stoffe im Verhältnis der Polymerie, die an sich relativ wenig miteinander zu tun haben, z. B. wäre der Traubenzucker $C_6H_{12}O_6$ ein Polymeres der Essigsäure $C_2H_4O_2$. Diese Konstatierung ist deshalb nicht ganz überflüssig, weil wir uns klar sein müssen, wie inhaltsarm der Polymeriebegriff in seiner allgemeinen Bedeutung ist. Erst durch sukzessive Einschränkung können wir ihm solche speziellen Merkmale beilegen, daß er für unsere Theorien überhaupt brauchbar ist. Die Polymerisationstheorie hat z. B. natürlich nur dann einen Sinn, wenn wir für ihre Zwecke den Begriff der Polymerie nur auf solche Stoffe anwenden wollen, welche tatsächlich durch Polymerisation ineinander übergehen können, also in genetischer Beziehung zueinander stehen. Auch dann ist der Begriff der Polymerisation noch so allgemein, daß er unter anderem jede kolloidchemische Aggregation eines Stoffes — falls eine solche überhaupt ohne Änderung der Zusammensetzung und ohne jede Beteiligung des Lösungsmittels oder anderer Fremdstoffe möglich ist — mit umfassen würde, andererseits aber auch so tiefgehende Umwandlungen, wie den Übergang von Formaldehyd in

Hexosen. Wir nehmen darum eine weitere Unterteilung vor und unterscheiden als krasse Gegensätze den weniger tiefgreifenden, umkehrbaren Vorgang der *Assoziation* von jener *Polymerisation im engeren Sinne*, welche mit einer ausgesprochenen chemischen Veränderung verbunden ist, die nicht ohne weiteres umzukehren ist. Aber natürlich sind dies nur Extremfälle, die durch Übergänge miteinander verbunden sind.

Die Erscheinung der *Assoziation* ist in ihrem Umfang und in ihrer theoretischen Bedeutung bisher etwas stiefmütterlich behandelt worden. Das hängt wohl damit zusammen, daß die Assoziation dem Chemiker gewöhnlich nur als störende Nebenerscheinung bei der Molekulargewichtsbestimmung gelöster oder gasförmiger Stoffe begegnet ist. Sie wird in der organischen Chemie vielfach als eine Eigentümlichkeit hydroxylhaltiger Stoffe beschrieben, welche die Ermittlung des wirklichen Molekulargewichts in gewissen Lösungsmitteln erschwert, eine Eigentümlichkeit, die durch Anwendung hydroxylhaltiger Lösungsmittel zu vermeiden ist. So ist der Irrtum entstanden, als ob es sich bei der Assoziation um eine Zusammenschiebung von Molekülen im Lösungszustand handle, die erst durch Verwendung von hydroxylhaltigen Lösungsmitteln unter Herstellung des „normalen" Molekulargewichts verhindert werden kann. Im Gegenteil: der assoziierte Zustand ist für manche Stoffe unter gewissen Versuchsbedingungen der normale Zustand und die scheinbare assoziationshemmende Wirkung hydroxylhaltiger Lösungsmittel ist darauf zurückzuführen, daß sich diese Lösungsmittel chemisch unter Aufspaltung des assoziierten Stoffes mit seinen Spaltmolekülen verbinden, sich ihrerseits mit ihm zu einer lockeren Verbindung aus mehreren nicht mehr wesensgleichen Molekülteilen zusammenschließen. Schon diese Einwirkung hydroxylhaltiger Lösungsmittel zeigt, daß die Kräfte, welche die Assoziation bewirken, nicht nur zwischen zwei gleichartigen, sondern auch zwischen verschiedenartigen Molekülen spielen können.

Zu einer weiteren Klärung des Assoziationsbegriffes mag es beigetragen haben, als wir in den letzten Jahren[15]) nachweisen konnten, daß sehr ausgeprägte Assoziationserscheinungen bei gewissen einfachsten Stoffen der Zuckergruppe, die kein Hydroxyl enthalten, eintreten. Ein Beispiel, das Methylcycloacetal des Acetoins, ist im folgenden wiedergegeben. Es handelt sich hier um ein Derivat des Ketonalkohols Acetoin, den wir uns zunächst in seine cyclische Form umgewandelt und dann im Hydroxyl methyliert denken müssen.

Bei dem Methylcycloacetal des Acetoins ist die Neigung zur Bildung von Doppelmolekülen so stark ausgebildet, daß bisher selbst in hydroxylhaltigen Lösungsmitteln eine Sprengung der Doppelmoleküle, eine Dissoziation, nicht zu beobachten war. Erst durch Überhitzung im Gaszustand läßt sich die Dissoziation erzwingen, aber sie ist reversibel. Auch das Acetoin selber, dessen offene Form



keinerlei Neigung zur Assoziation zeigt, assoziiert in seiner Cycloform. Zweifellos hängt die Assoziation hier nicht mit Hydroxylgruppen zusammen, sondern mit dem enggespannten Dreiring und die assoziierenden Kräfte gehen, wenigstens in der Hauptsache von dem Ringsauerstoff aus*). Wir haben es hier mit einem Fall von mehrwertigem Sauerstoff zu tun, bei welchem die Mehrwertigkeit zwischen zwei gleichen Teilmolekülen zur Wirkung kommt. Wir dürfen uns darum vermerken, daß die bekannte Spaltung des Hexaphenyläthans zu Triphenylmethyl und dessen Wiedervereinigung zum Äthanderivat eine ganz ähnliche affinitative Grundlage hat. Das im Triarylmethyl dreiwertige Kohlenstoffatom vermag mit Hilfe von Affinitätsresten eine höhere Wertigkeit zu entwickeln. Nach alledem werden wir die Assoziation nur als einen Spezialfall der allgemeinen Neigung zur Bildung von Molekülverbindungen betrachten. Es handelt sich um die Neigung gewisser Moleküle, sich durch Affinitätsreste einzelner Atome oder Atomgruppen in reversibler Form und ohne Verschiebung der Atome der Teilmoleküle untereinander zu größeren Verbänden zu vereinigen. Der spezielle Unterschied der Assoziate von anderen lockeren Restvalenzverbindungen liegt in der Gleichheit der beiden zusammentretenden Molekülarten, ist also mehr formaler Natur. Dagegen ist die Zweizahl der Komponenten keineswegs Bedingung für den Assoziationsbegriff. Wenn eine Molekülart infolge ihrer Struktur assoziationsfähige Nebenvalenzen aufweist, wird sie dieselben unter geeigneten physikalischen Bedingungen automatisch betätigen. Wenn also ein Stoff nicht ohne weiteres in ein zugehöriges beständiges Polymeres umgewandelt wird, dürfen wir annehmen, daß beide nicht im einfachen Assoziationsverhältnis stehen. Entweder handelt es sich überhaupt nicht um Assoziation, oder der

*) In valenztechnischer Beziehung wichtig wäre hier vor allem die Frage, ob unser neuer Assoziationstypus symmetrisch gebaut ist; denn außer einer Assoziation von Brückensauerstoff mit Brückensauerstoff lassen sich, trotz der Gleichheit der beiden Teilmoleküle, auch sehr wohl unsymmetrische Formen der Verknüpfung denken. Die Entscheidung solcher Fragen ist einwandfrei wohl nur mit physikalischen Methoden möglich.

Grundkörper muß erst durch Umlagerung in ein Isomeres übergehen, das assoziationsbegierig ist. Ein Beispiel für den letzteren Fall ist das zuvor angeführte freie Acetoin: Die Cycloform des Acetoins steht mit ihrem Dimeren in einfachem Assoziationsverhältnis. Dagegen geht die Oxoform des Acetoins erst nach Übergang in die Cycloform, also unter atomarer Umlagerung in das Dimere über. Die Kombination beider Teilvorgänge liefert die Bestimmungselemente des Begriffes der Polymerisation im engeren Sinn.

Wenn wir im Sinne der zuvor gemachten Ausführungen hier als Polymerisation im engeren Sinne eine Vervielfachung des Molekulargewichtes unter gleichzeitiger chemischer Veränderung des Grundkörpers verstehen wollen, so sprechen wir damit ausdrücklich aus, daß der Grundkörper und das Polymerisat, wenn sie auch in chemischer Beziehung zueinander stehen, doch in wesentlichen Strukturpunkten voneinander verschieden sind. Der sog. Grundstoff gibt beim Übergang in das hochmolekulare Polymerisat wesentliche Teile seiner Struktur auf.

Wenn wir also im Sinne der Polymerisationstheorie irgendeinen cyclischen Stoff als Grundstoff des Polymerisates Eiweiß oder des Polymerisates Stärke ansprechen wollen, so behaupten wir damit nur, daß beide bei verschiedenem Molekulargewicht gleiche Zusammensetzung haben und ineinander überführbar sind, wir sagen aber damit nicht aus, daß das Polymerisat noch dasselbe Ringsystem hat wie der Grundstoff, oder daß es überhaupt noch ein Ringsystem hat.

Insofern bietet die Assoziationstheorie mehr. Sie behauptet neben der gleichen Zusammensetzung von Grundstoff und Assoziat auch noch, daß beide die gleiche Atomanordnung aufweisen. Wir können uns ihren sachlichen Inhalt vielleicht so wiedergeben, daß (im Falle ihrer Richtigkeit) das seiner Größe nach noch unbekannte Eiweißmolekül aus kleineren, ebenfalls noch unbekannten Komplexen besteht, die in verhältnismäßig lockerer Form durch Valenzreste zusammengefügt sind und leicht wieder voneinander zu lösen sein müssen.

Beide Theorien, die Assoziations- und die Polymerisationstheorie sagen uns nichts über die Struktur der assoziierenden oder polymerisierenden Grundstoffe, nichts über die Lokalisation der Restvalenzen, nichts über die chemischen Veränderungen bei der vorausgesetzten Polymerisation. Die Vermittlung dieser Dinge muß nach wie vor dem Experiment überlassen bleiben. Wir haben darum im Institut für Lederforschung das Proteinproblem und die Polymerisationsfrage lediglich vom experimentellen Standpunkt bearbeitet. Wir legen das Schwergewicht auf das genaue Studium der verschiedenen möglichen Bildungselemente der Proteinbausteine und auf das Studium assoziierender und polymerisierender Atomgruppen. Einen ersten kleinen Erfolg glauben wir hier mit der Auffindung des zuvor erwähnten Anhydroglycylserinanhydrids erreicht zu haben. Denn der Übergang des Anhydrids I in das Anhydrid II ist scheinbar eine echte Polymerisation. Das leicht lösliche Anhydrid I vom Molekulargewicht 126 geht bei der kürzesten Berührung mit schwachem Alkali und nachherigem Ansäuern in das gleichzusammengesetzte Anhydrid II über, das in allen Lösungsmitteln schwerlöslich oder unlöslich ist und zweifellos ein hohes Molekulargewicht hat. Wo es, wie von heißem Wasser, aufgenommen wird, entsteht keine echte Lösung, sondern eine kolloidale, trübe Flüssigkeit. Da solche Vorgänge bisher bei einfachen Eiweißbausteinen kaum bekannt[16]) sind, hoffen wir aus dem weiteren Studium derartiger Modelle genau wie in der Zuckergruppe erschließen zu können, an welche Atome oder Atomgruppen die Lust zur Bildung größerer Moleküle gebunden ist.

Literatur:

1) EMIL FISCHER, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **39**, 607. 1906; Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine **1**, S. 80.

2) EMIL FISCHER, Zeitschr. f. physiol. Chem. **99**, 54. 1916.

3) N. TROENSEGAARD, Zeitschr. f. physiol. Chem. **112**, 86. 1920 u. **127**, 137. 1923.

4) P. BRIGL, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **56**, 1887. 1923.

5) E. ABDERHALDEN, Die Naturwissenschaften **12**, 716. 1924; E. ABDERHALDEN und E. KOMM, Zeitschr. f. physiol. Chem. **139**, 181. 1924.

6) T. SASAKI, Biochem. Zeitschr. **114**, 64. 1921.

7) M. BERGMANN, E. BRAND und F. WEINMANN, Zeitschr. f. physiol. Chem. **131**, 1. 1923.

8) R. O. HERZOG und W. JANKE, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **53**, 2162. 1920; R. BRILL, Liebigs Ann. d. Chem. **434**, 204. 1923; R. O. HERZOG und M. KOBEL, Zeitschr. f. physiol. Chem. **134**, 299. 1924 (Anm. 2).

9) P. KARRER und CH. GRÄNACHER, Helvetica chimica acta **7**, 763. 1924.

10) S. GABRIEL und TH. HEYMANN, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **23**, 2493. 1890.

11) M. BERGMANN, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **57**, 753. 1924; M. BERGMANN und ST. LUDEWIG, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **57**, 961.

12) R. O. HERZOG in ULLMANN, Enzyklopädie der technischen Chemie, „Eiweißkörper" S. 495, Z. 3. 1916.

13) K. HESS, Zeitschr. f. Elektrochemie **26**, 232. 1920.

14) EDM. STIASNY, Collegium 1920, H. 602, S. 255 und Science **57**, Nr. 1478, S. 483. 1923.

15) M. BERGMANN und A. MIEKELEY, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **54**, 2150. 1921; M. BERGMANN und ST. LUDEWIG, Liebigs Ann. d. Chem. **436**, 173. 1924.

16) Vgl. dazu H. LEUCHS und W. GEIGER, Ber. d. Dtsch. chem. Ges. **41**, 1721. 1908.